

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ**  
**«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**  
**ХІМІКО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**КАФЕДРА ФІЗИЧНОЇ ХІМІЇ**

«На правах рукопису»  
УДК 547.541.13

«До захисту допущено»  
Завідувач кафедри

\_\_\_\_\_ О.Е. Чигиринець

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 р.

**Магістерська дисертація**

зі спеціальності (спеціалізації) 161 Хімічні технології та інженерія (Хімічні технології косметичних засобів та харчових добавок)

на тему: «Розробка та дослідження антиоксидантних синергетичних сумішей на основі амінокислот»

Виконала: студентка 2 курсу, групи ХД-81мп  
Гончаренко Анастасія Сергіївна

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Науковий керівник:  
завідувач кафедри фізичної хімії, д.т.н., професор,  
Чигиринець О.Е.

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Консультант: «Розроблення стартап-проекту»  
к.е.н., доцент, Тюленєва Ю.В.

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Рецензент: доцент кафедри ТНР, В та ЗХТ  
к.т.н., доцент, Янушевська О.І.

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Засвідчую, що у цій магістерській дисертації немає  
запозичень з праць інших авторів без відповідних  
посилань  
Студент \_\_\_\_\_

Київ – 2019 року

**Національний технічний університет України**  
**«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»**

**Хіміко-технологічний факультет**

**Кафедра фізичної хімії**

Рівень вищої освіти – другий (магістерський) за освітньо-професійною програмою «Хімічні технології косметичних засобів та харчових добавок»

Спеціальність (спеціалізація) – 161. Хімічні технології та інженерія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Чигиринець О.Е.

«\_\_»\_\_\_\_\_20\_\_ р.

**ЗАВДАННЯ**

**на магістерську дисертацію студенту**

**Гончаренко Анастасії Сергіївні**

1. Тема дисертації «Розробка та дослідження антиоксидантних синергетичних сумішей на основі амінокислот»,

науковий керівник дисертації Чигиринець Олена Едуардівна, зав.каф., проф., д.т.н.,

затверджені наказом по університету від «\_\_»\_\_\_\_\_20\_\_ р. №\_\_\_\_\_

2. Термін подання студентом дисертації \_\_\_\_\_

3. Об'єкт дослідження – аскорбінова кислота та амінокислоти, а саме гістидин, карнітин, метіонін, серин та лізин.

4. Предмет дослідження –антиоксидантна активність, віднолювальна здатність аскорбінової кислоти, синергетична ефективність сумішей на основі амінокислот.

5. Перелік завдань, які потрібно розробити - визначення антиоксидантної активності та відновлювальної здатності аскорбінової кислоти та ряду амінокислот фосфомолібденовим та фериціанідним методами, встановлення залежності антиоксидантної активності від будови молекул кислот методом квантово-хімічних розрахунків, розробка синергетичних сумішей кислот.

6. Орієнтовний перелік графічного (ілюстративного) матеріалу - 29 рис., 30 табл.

7. Орієнтовний перелік публікацій тези «Синергетична суміш з антиоксидантними властивостями», «Квантово-хімічна оцінка антиоксидантної активності сумішей на основі амінокислот».

8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розроблення стартап-проекту	Тюленєва Ю.В., доцент, к.е.н.		

9. Дата видачі завдання: 28.10.2019

#### Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1.	Літературний огляд	05.05–15.06.19	
2.	Вибір методик для визначення антиоксидантної активності	15.06–30.06.19	
3.	Визначення антиоксидантної активності та відновлювальної здатності кислот	03.09–30.09.19	
4.	Розробка антиоксидантних синергетичних сумішей кислот в двох- та трьохкомпонентних системах.	01.10–31.10.19	
5.	Квантово-хімічні розрахунки	04.11–11.11.19	
6.	Розроблення стартап-проекту	04.11–24.11.19	
7.	Оформлення магістерської дисертації	25.11–04.12.19	

Студент \_\_\_\_\_

А.С. Гончаренко  
(підпис)

Науковий керівник дисертації \_\_\_\_\_

О.Е. Чигиринець  
(підпис)

## РЕФЕРАТ

Дана магістерська дисертація містить:

Кількість сторінок: 101

Кількість таблиць: 30

Кількість рисунків: 29

Кількість використаних джерел: 70

**Актуальність теми.** Амінокислоти і інші білкові компоненти косметики в даний час відносять до біологічно активних речовин, здатним впливати на процеси, що протікають в шкірі. Косметика з білковими компонентами особливо рекомендується для сухої шкіри. Також амінокислоти використовуються в якості антиоксидантів, що важливою групою харчових добавок завдяки яким підвищується термін придатності харчових продуктів без зниження смакових характеристик та харчової цінності.

**Мета та завдання дослідження.** Метою даної роботи є визначення антиоксидантної активності ряду амінокислот фосфомолібденовим та методом відновлення заліза та дослідження впливу структури амінокислоти на антиоксидантну активність.

Для досягнення мети дослідження необхідно вирішити наступні завдання:

1. Визначення антиоксидантної активності та відновлювальної здатності аскорбінової кислоти та ряду амінокислот.
2. Встановлення залежності антиоксидантної активності від типу замісника в структурі кислот.
3. Розробка антиоксидантних синергетичних сумішей кислот в двох - та трьохкомпонентних системах.
4. Встановлення залежності антиоксидантної активності від будови молекул кислот методом квантово-хімічних розрахунків.

**Предметом даного дослідження** є антиоксидантна активність.

**Об'єктом даного дослідження** є аскорбінова кислота та ряд амінокислот — гістидин, карнітин, Серин, лізин, метіонін.

**Методи дослідження.** Антиоксидантна активність кислот визначалася фосфомолібденовим методом. Відновлювальна здатність кислот визначалася фериціанідним методом. Обидва є спектрофотометричними. Розробка антиоксидантних синергетичних сумішей здійснювалася за фосфомолібденовим методом. Основні квантово-хімічні розрахунки молекул були визначені за допомогою програми HyperChem.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Спектрофотометричним методом досліджена антиоксидантна активність амінокислот в порівнянні з аскорбіною. Встановлені оптимальні співвідношення в двох- та трьохкомпонентних сумішах, які забезпечують синергетичне зростання антиоксидантної здатності. Найбільш перспективними є синергетичні суміші на основі аскорбінової кислоти та L-карнітину =3:7 (SE=476%) та аскорбінової кислоти, L-гістидину, L-серину=1:1:3, (SE=1200 %). Розрахунками встановлено взаємозв'язок синергетичного ефекту в сумішах від квантово-хімічних параметрів та будови молекул амінокислот.

**Апробація результатів дисертації:** 1. Актуальні питання хімії та інтегрованих технологій : матеріали міжнар. наук.-практ. конф.,/ ХНУМГ ім. О. М. Бекетова — Харків : 2019. — 176 с. (Тези: Синергетична суміш з антиоксидантними властивостями).

2. Матеріали другої міжнародної науково-практичної конференції «Інтеграційні та інноваційні напрями розвитку харчової індустрії». Том I. — вид. ФОП Гордієнко Є.І., Черкаси, 2019 — 148 с. (Тези: Квантово-хімічна оцінка антиоксидантної активності сумішей на основі амінокислот).

**Практичне застосування** одержаних результатів полягає в розширенні та оновленні асортименту косметичної продукції за рахунок модернізації рецептури зволожуючих кремів для шкіри обличчя на основі сумішей амінокислот. Дане дослідження може бути використане як підґрунтя для нових наукових досліджень.

**Ключові слова:** синергетичні суміші, антиоксидантна активність, фосфомолібденовий метод, амінокислоти, аскорбінова кислота.

## ABSTRACT

This Master's dissertation contains:

Number of pages: 101

Number of tables: 30

Number of pictures: 29

Number of sources used: 70

**Actuality of theme.** Amino acids and other protein components of cosmetics are now classified as biologically active substances capable of influencing processes occurring in the skin. Cosmetics with protein components are especially recommended for dry skin. Amino acids are also used as antioxidants, which is an important group of nutritional supplements that increases the shelf life of foods without reducing taste and nutritional value.

**The purpose and objectives of the study.** The purpose of this work is to determine the antioxidant activity of a number of amino acids by phosphomolybdenum and a method of iron reduction and to study the effect of amino acid structure on antioxidant activity.

To achieve the goal of the study, you must solve the following problems:

1. Determination of antioxidant activity and reducing capacity of ascorbic acid and a number of amino acids.
2. Establishment of dependence of antioxidant activity on the type of substituent in the structure of acids.
3. Development of antioxidant synergistic mixtures of acids in two- and three-component systems.
4. Determination of dependence of antioxidant activity on the structure of acid molecules by the method of quantum-chemical calculations.

**The subject of this study** is antioxidant activity.

**The object of this study** is ascorbic acid and amino acids — histidine, carnitine, serine, lysine, methionine.

**Research methods.** The antioxidant activity of the acids was determined by the phosphomolybdenum method. The reducing capacity of the acids was determined

by the ferricyanide method. These methods are spectrophotometric methods. The development of antioxidant synergistic mixtures was carried out by phosphomolybdenum method. Main quantum chemical calculations of molecules were determined using the HyperChem program.

**Scientific novelty of the obtained results.** Spectrophotometric method investigated the antioxidant activity of amino acids in comparison with ascorbic. Optimal ratios in two- and three-component mixtures have been established to provide synergistic growth of antioxidant capacity. The most promising are synergistic mixtures based on ascorbic acid and L-carnitine = 3: 7 (SE = 476%) and ascorbic acid, L-histidine, L-serine = 1: 1: 3, (SE = 1200%). The calculations establish the correlation between the synergistic effect in mixtures of quantum-chemical parameters and the structure of amino acid molecules.

**Testing of dissertation results:** 1. Topical issues of chemistry and integrated technologies: materials international. Research Practice conf., / O.M. Beketov NUUE. — Kharkiv: 2019. — 176 p. (Abstract: Synergistic mixture with antioxidant properties).

2. Materials of the second international scientific-practical conference "Integration and innovative directions of development of food industry". Volume I. — Cherkasy, 2019. — 148 p. (Abstract: Quantum-chemical evaluation of antioxidant activity of mixtures based on amino acids).

**The practical application** of the results is to expand and update the range of cosmetic products by modernizing the formulation of moisturizing creams for the face based on mixtures of amino acids. This research can be used as a basis for new scientific research.

**Keywords:** *synergistic mixtures, antioxidant activity, phosphomolybdenum method, amino acids, ascorbic acid.*

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

Asc, AK – аскорбінова кислота

Amin – амінокислота

bHKP – розгалужений гістидин-лізиновий пептид

L-His – L-гістидин

L-Kar – L-карнітин

L-Met – L-метіонін

L-Ser – L-серин

L-Lys – L-лізин

MIC – мінімальна інгібуюча концентрація

RP – reducing power; відновлювальна здатність

ROS, АФК – активна форма кисню

SAM – S-аденозилметіонин

SE – синергетична ефективність

ЗАА – загальна антиоксидантна активність

ЗПАА – загальна потенціальна антиоксидантна активність

ТОВ – товариство обмеженої відповідальності



## ЗМІСТ

ВСТУП .....	11
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	13
1.1 Застосування природних антиоксидантів в харчових продуктах .....	13
1.2 Класифікація природних антиоксидантів.....	15
1.2.1 Фенольні сполуки: флавоноїди, ефірні масла, токофероли.....	15
1.2.2 Токофероли.....	18
1.2.3 Аскорбінова кислота.....	19
1.3 Механізм дії антиоксидантів .....	23
1.3.1 Механізм дії природних антиоксидантів.....	23
1.3.2 Взаємодія антиоксидантів при окисненні харчових продуктів .....	23
1.4 Методи оцінки антиоксидантної активності.....	27
1.4.1 Електрохімічні методи .....	27
1.4.2. Хроматографічні методи .....	28
1.4.3 Методи оптичної спектроскопії.....	30
Висновки до розділу 1 .....	33
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ .....	34
2.1 Об'єкти досліджень .....	34
2.2 Методи визначення антиоксидантної активності аскорбінової кислоти та амінокислот.....	38
2.2.1 Визначення антиоксидантної активності фосфомолібденовим методом	38
2.2.2 Визначення антиоксидантної активності з точки зору відновлювальної сили фериціанідним методом .....	39
2.3 Квантово-хімічний метод оцінки антиоксидантної активності амінокислот .....	40
Висновки до розділу 2 .....	41
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	42
3.1 Дослідження антиоксидантних властивостей індивідуальних сполук в залежності від їх концентрації.....	42
3.2 Дослідження синергетичного ефекту сумішей амінокислот з аскорбіновою кислотою .....	48

3.3. Квантово-хімічні розрахунки молекул аскорбінової кислоти та амінокислот.....	60
3.3.2 Розрахунки та аналіз квантово-хімічних параметрів аскорбінової кислоти та амінокислот .....	61
Висновки до розділу 3 .....	66
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБЛЕННЯ СТАРТАП-ПРОЕКТУ .....	67
4.1 Резюме (вступ): бізнес-ідея, мета стартап-проекту, техніко-економічні показники .....	67
4.2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу .....	71
4.3 Визначення потенційних споживачів .....	77
4.4 Ціна інноваційної пропозиції на ринку .....	80
4.5 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту .....	87
4.6 Ризики розробки та методи управління ними .....	90
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	95

## ВСТУП

Антиоксиданти вважають надзвичайно важливою групою харчових добавок завдяки їх унікальним властивостям підвищувати термін придатності харчових продуктів без зниження смакових характеристик та харчової цінності. В біологічних системах антиоксиданти сприяють захисту від оксидативного стресу та виникнення серцево-судинних, неврологічних та онкологічних захворювань [1,2]. Серед природних антиоксидантів можна виділити токофероли, які застосовують в хлібопекарських та кондитерських виробках та маслах.  $\beta$ -каротин присутній в вершковому, кокосовому та кукурудзяному маслах.

Аскорбінова кислота сприяє прискореного забарвлення і забезпечує стабільність кольору вареної ковбаси, бекону, солонини, окостів, рибних м'ясних продуктів. Для запобігання самоприскорюючого окислювального псування і прогіркнення жирів, утворення низькомолекулярних речовин при виготовленні маргаринів, майонезів та тваринних жирів використовується аскорбінова кислота.

В якості антиоксидантів використовуються також амінокислоти, серед яких відомим є гістидин, аргінін, аспарагін та ін. В організмі людини гістидин - це важлива хімічна сполука, яка сприяє здійсненню білкового обміну, та бере участь в утворенні червоних і білих кліток крові, що міститься в гемоглобіні.

Подібні амінокислоти здатні вступати у взаємодію з утворенням комплексів з певними реактивами, такими як фосфомолібденовий, такими методами, як по відновленню заліза, по окисненню кроцина.

Метою даної роботи є визначення антиоксидантної активності ряду амінокислот фосфомолібденовим та методом відновлення заліза та дослідження впливу структури амінокислоти на антиоксидантну активність.

Предметом даного дослідження є антиоксидантна активність.

Об'єктом даного дослідження є аскорбінова кислота та ряд амінокислот – гістидин, L-карнітин, серин, лізин, метіонін.

Для досягнення мети дослідження необхідно вирішити наступні завдання:

5. Визначення антиоксидантної активності та відновлювальної здатності аскорбінової кислоти та ряду амінокислот.
6. Встановлення залежності антиоксидантної активності від типу замісника в структурі кислот.
7. Розробка антиоксидантних синергетичних сумішей кислот в двох- та трьохкомпонентних системах.
8. Встановлення залежності антиоксидантної активності від будови молекул кислот методом квантово-хімічних розрахунків.

## РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1 Застосування природних антиоксидантів в харчових продуктах

На сьогоднішній день у виробничих умовах активно використовують синтетичні, природні або комбіновані антиоксидантні сполуки. Синтетичні антиоксиданти є найбільш дешевими, доступними і технологічними та знаходять все більшого застосування в харчовій промисловості. У групу цих речовин входять синтетичні аналоги природних антиоксидантів, а також велика група штучних антиокислювачів на основі фенольних та сірковмісних сполук [1-3].

**Поліфеноли** - антиоксиданти, які чинять благотворний вплив на здоров'я людини. Ці речовини являють собою рослинні пігменти, що містяться у великих кількостях в шоколаді, зеленому чаї, винограді, яблуках, гранатовому соку і журавлині, а також інших фруктах і овочах. Одна з головних переваг поліфенолів – це знежирення важкої і багатой жирами їжі. Цим пояснюється звичка запивати їжу великою кількістю червоного вина, у складі якого, як і у винограді, багато антиоксидантів [4].

Сумарний склад поліфенолів достатньо повно встановлено в овочах, фруктах, напоях і спеціях. Згідно науково-технічної літератури [4], лідируючими джерелами поліфенолів є :

а) серед спецій гвоздика, м'ята, бадьян, що містять від 15188 до 5460 мг/100 г поліфенолів і ягоди – аронія чорноплідна, бузина чорна, лохина, чорна смородина, містять від 1756 до 758 мг/100 г поліфенолів;

б) альтернативним сировинним джерелом для отримання поліфенолів можуть слугувати цільозернові злаки, в яких загальний вміст поліфенолів знаходиться нарівні з традиційними сировинними джерелами фенольних антиоксидантів - ягодами. Так кількість поліфенолів в пшениці може доходити до 1 459 мг/100 г, в рисі – до 313 мг/100 г, в житі – до 255 мг/100 г [5].

Антиоксиданти застосовують в основному для запобігання псуванню сухого цільного молока. Так, пропілгалат, внесений в кількості  $1 \cdot 10^{-2} \%$ , більш ефективно гальмує окиснення сухого молока, ніж ТБГХ (трет-бутилгідрокінон), взятих в тій же концентрації [6]. Сухе молоко зберігає прийнятний смак протягом 34 місяців зберігання з камферолом і протягом 12 місяців при зберіганні з кверцетином при  $20^\circ\text{C}$ , взятих в тій же кількості. При цьому за відсутності антиоксидантів характерний сальний присмак з'являється через 8 місяців [7]. Цікаво, що з 9 фракцій молочних фосфоліпідів, три зникають через три місяці незалежно від присутності антиоксидантів [7].

Аскорбінова кислота гальмує окиснення молока. Додавання 200-250 мг аскорбінової кислоти і 100 мг цитрату натрію в 1 л молока дозволяє захистити від окиснення ліпіди, вітаміни А і Д при тривалому зберіганні [8]. Аскорбінова кислота дуже ефективна в якості антиоксиданту і антигідролітичного агента в маслі. Вона також запобігає розвитку червоного кольору, що з'являється в результаті реакції Майяра в сирі, дозріваючого в дерев'яних ящиках [8].

Суміш аскорбілпальмітат та лимонної кислоти в концентрації 0,01 % підвищує термін зберігання сухого молока приблизно від 100 днів за відсутності антиоксидантів до 235 днів при  $37^\circ\text{C}$  [7]. Більш перспективним антиоксидантом є ретинил пальміат, ефективно гальмує окиснення сухого знежиреного молока [9]. При цьому, аскорбілпальмітат, взятий окремо, дозволяє зберегти смакові властивості продукту лише 70 днів [7].

Аскорбілпальмітат також ефективно гальмує окиснення вершкового масла [6, 9]. Його внесення в концентрації  $5 \cdot 10^{-4} \%$ ,  $1 \cdot 10^{-3} \%$  і  $2,5 \cdot 10^{-3} \%$  дозволяє підтримувати високу якість готової продукції при температурі  $5^\circ\text{C}$  протягом 12, 14 і 22 тижнів зберігання, відповідно. Подальше підвищення концентрації антиоксиданта призводить до погіршення смакових характеристик [6,10].

Катехіни, які містяться в зеленому чаї, застосовуються в якості антиоксидантів, в тому числі і м'ясних виробів [11,12]. Так, Танг і ін. провели порівняльні дослідження впливу катехінів і  $\alpha$ -токоферолу, взятих у кількості

300 мг/кг м'яса на оксидативну стабільність яловичих і курячих паштетів [13]. Показано, що через 10 днів зберігання при температурі 4°C у паштетів, збагачених антиоксидантами, рівень реперфузійного синдрому тіобарбітурової кислоти (РС ТБК) помітно зменшується в порівнянні з контрольними зразками. При цьому катехіни володіють вищою антиоксидантною активністю, ніж  $\alpha$ -токоферол.

Таким чином, включення активних компонентів рослин до складу рецептур м'ясних виробів дозволить збільшити термін їх придатності і запобігти виникненню хронічних захворювань, пов'язаних з вживанням м'яса і молочних продуктів. Показано, що внесення природних антиоксидантів підсилює дію ендогенних антиоксидантів, спрямованих на гальмування оксидативного стресу.

## **1.2 Класифікація природних антиоксидантів**

### **1.2.1 Фенольні сполуки: флавоноїди, ефірні масла, токофероли**

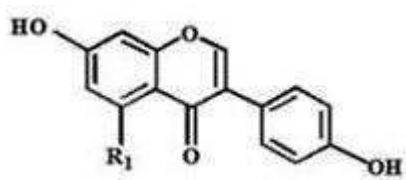
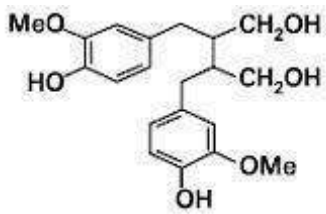
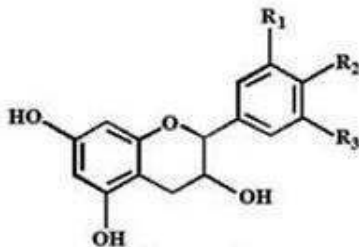
Поліфеноли є групою декількох класів слабкокислих хімічних сполук, які містять декілька ароматичних(бензольних) кілець безпосередньо зв'язаних з одною та більше гідроксильною(фенольною) групою. Вони є вторинними метаболітами рослин, що утворені в результаті протікання шикиматного шляху - спеціалізованого шляху біосинтезу бензоїдних ароматичних сполук [14].

Флавоноїди – вторинні метаболіти рослин, які формують їх колір та аромат [15]. Присутні в овочах, фруктах, горіхах, прянощів, а також в продуктах їх переробки (в вині та чаї). Оксидативний стрес є причиною багатьох захворювань людини. Тому флавоноїди, виконуючи роль антиоксиданту, зв'язують йони перехідних металів та слугують вільнорадикальною пасткою. Флавоноїди також мають і інші корисні властивості – протизапальні, противірусні, протимікробні, знижують розповсюдження онкологічних захворювань та посилюють імунну систему [15,16]. В деяких випадках ці сполуки можуть виступати в ролі прооксидантів,

оскільки при окисненні генеруються вільні радикали, що руйнують ДНК та інші важливі біомолекули.

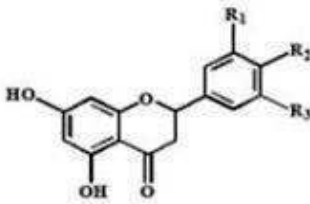
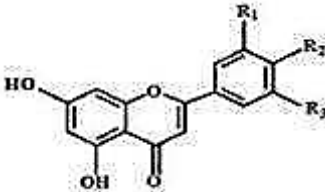
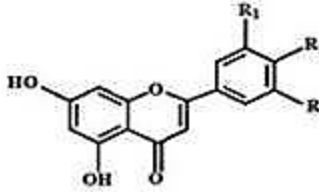
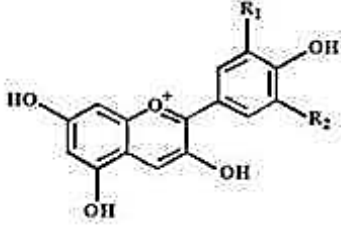
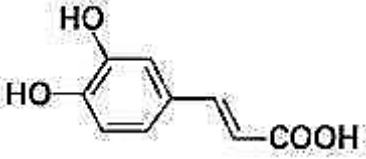
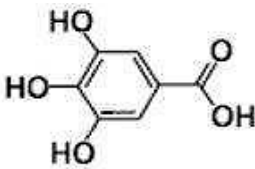
Структура молекул найбільш важливих флавоноїдів представлена в таблиці 1.2.

Таблиця 1.1. – Класифікація поліфенолів, їх хімічна структура та джерела одержання

Клас	Структура	Поширені представники	Приклади продуктів
Фенольні кислоти	Гідроксокоричні кислоти 	Кавова кислота	Кавові боби
	Гідроксибензойні кислоти 	Галова кислота	Ліщина, чайне листя, дубова кора
Флавоноїди	Антоціанідини 	Ціанідин	Ягоди, червоно-качанна капуста
	Флаванолі 	Катехіни	Білий, зелений, чорний
		Теафлавіни	Чорний чай
		Проантоціанідини	Шоколад, фрукти, овочі, червоне вино, цибуля



Продовження таблиці 1.1

Флавоноїди	Флаванони 	Гесперидин	Цитрусові
		Нарингенін	
		Силібінін	Розторопша
	Флавоноли 	Кверцетин	Цибуля, чай, вино, яблука, клюква, боби
	Флаволи 	Апігенін	Ромашка
		Тангерітин	Мандарини та інші цитрусові
		Лютеолін	Селера, кмин, зелений перець
	Ізофлаволи 	Геністеїн	Соя, люцерна, червона конюшина, нут, бобові
Стильбени		Ресвератрол	Виноград, червоне вино
Лігнани		Ларициренізол	Льон

Флавоноїди представляють інтерес в якості природних протиракових препаратів. Проведені дослідження показали, що флавоноїд апігенін здатний послабити ракові клітини, перепрограмуючи їх на генетичному рівні [17].

### 1.2.2 Токофероли

Вітамін Е являє собою комплексну суміш з 4 токоферолів ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  та  $\delta$ ), а також 4 токотриєнолів ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  та  $\delta$ ), що синтезуються в реакції гомогентизинової кислоти з ізопентил дифосфатом в пластидному конверті рослин. Біологічна активність вітаміна Е визначається як еквівалентна активність  $\alpha$ -токоферола. Активності  $\beta$ -,  $\gamma$ - та  $\delta$ -токоферола складають відповідно 0,5; 0,1 та 0,03.

Як неферментативний антиоксидант, токоферол перевіряє перекисне окиснення ліпідів через обмеження поширення ланцюга цієї реакції [26].

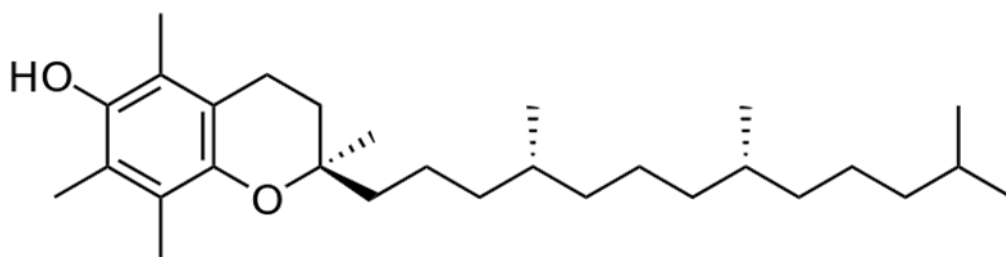


Рис.1.1 – Вітамін Е.

Токофероли містяться в рослинних оліях, таких як бавовняній, кукурудзяній, соняшниковій, а також в квасолі, зеленому горошку, шпинаті, абрикосах та персиках.

Застосування вітаміну Е сприяє:

- запобіганню передчасного старіння клітинних структур;
- активному виробленню колагену, розгладження зморшок;
- підвищення пружності та еластичності шкіри;
- утримуванню вологи в епідермісі;
- нормалізації вироблення шкірного сала;
- підвищення бар'єрних функцій епідермісу.

Токофероли часто використовують як харчові добавки, що виконують ряд важливих біологічних функцій. Технологічні ускладнення пов'язані з низькою розчинністю у воді, усуваються шляхом інкапсуляції токоферола всередину молекули желатину [18].

### 1.2.3 Аскорбінова кислота

Аскорбінова кислота (вітамін С), як і вітамін Е, є антиоксидантом з низькою молекулярною масою, який безпосередньо взаємодіє з окиснювальними радикалами і захищає клітини від активних форм кисню. Він очищає водний активну форму кисню (ROS) шляхом дуже швидкого переносу електронів, що, таким чином, інгібує перекисне окиснення ліпідів [26].

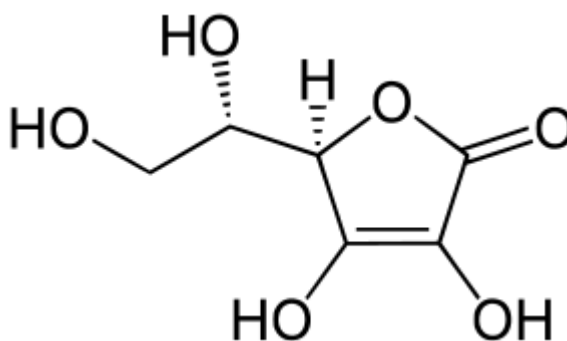


Рис.1.2 – Аскорбінова кислота

Є дані, що аскорбінова кислота впливає на ряд реакцій гідроксилування. Відомо кілька гідроксилаз, що утворюють колаген, такі як проліл-гідроксилази, проліл-3-гідроксилази і лізилгідроксилази. Вони потребують відновника для максимальної активності *in vitro*, та аскорбінова кислота є найбільш ефективною з досліджених [21].

Досліджено антиоксидантні та прооксидантні властивості аскорбінової кислоти та галової кислоти. Вони, при концентрації 1,65 мМ, прискорюють окиснення дезоксирибози, індукованої  $\text{Fe}^{3+}$ -EDTA $\text{H}_2\text{O}_2$  [22]. Прооксидантний механізм для цих кислот, ймовірно, обумовлений сильною відновлюючою здатністю і слабкою металокеруючою здатністю.

Тривалий час аскорбінова кислота вважається синергістом, що підвищує антиоксидантну активність багатьох антиоксидантів, розчинних в маслах(токоферолах) [18,19]. В маслах рослинного походження, що містять токоферол, аскорбінова кислота виступає синергістам [20]. Доведено, що суміш аскорбінової кислоти та аскорбілпальміата, лецитину та  $\alpha$ -токоферола є ефективною сумішшю в соєвому, соняшниковому та арахісовому маслах. Комбінація гістидину та аскорбінової кислоти високоефективна в кукурудзяному маслі [20].

У природі значні кількості аскорбінової кислоти містяться в плодах цитрусових, а також в овочах, таких як броколі, брюсельська капуста, цвітна та качанова капуста, болгарський перець, помідори, та ягодах (чорна смородина, суниця).

Стверджується, що аскорбінова кислота ефективна у профілактиці та лікуванні раку, застуді, атеросклерозі, катарактах та СНІД [21].

#### **1.2.4 Амінокислоти**

Амінокислоти, які беруть участь в утворенні білків, можна класифікувати за різними ознаками. Відповідно до положення ізоелектричної точки розрізняють кислі, основні і нейтральні амінокислоти, за будовою бокового ланцюга R - аліфатичні, ароматичні і гетероциклічні. Гідроксиамінокислоти містять додатково ОН-групи, сірковмісні амінокислоти мають в бічному ланцюзі тіольні або тіоефірні групи.

Самостійну групу утворюють імінокислоти пролін і гідроксипролін, у яких вторинна аміногрупа -NH- входить до складу піролідинового кільця.

За полярністю бічного ланцюга R розрізняють полярні і неполярні амінокислоти. До неполярних амінокислот відносяться гліцин і аланін, а також гідрофобні амінокислоти - валін, лейцин, ізолейцин, пролін і феніл аланін. До полярних амінокислот належать серин, треонін, цистеїн, метіонін, аспарагін, глютамін і триптофан (нейтральні сполуки), аспарагінова і глютамінова кислоти і тирозин (кислі гідрофільні амінокислоти), а також лізин, аргінін і гістидин

(основні гідрофільні амінокислоти). Гідрофільні полярні сполуки підвищують розчинність пептидів і білків у водних системах, в той час як центрально-полярні амінокислоти відповідальні за каталітичну активність ферментів. На противагу неполярних гідрофобним амінокислотам полярні амінокислоти зазвичай знаходяться на поверхні молекули білка.

Амінокислоти, що входять до складу білків представлені в таблиці 1.2

Табл.1.2 — Основні формули амінокислот, що входять до складу білків [23].

Формула	Назва	Скорочене позначення
<i>Аліфатичні амінокислоти</i>		
$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Гліцин, глікокол, амінооцтова кислота	Глі
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Аланін, α-амінопропіонова кислота	Ала
$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Валін*, α-аміноізовалеріанова кислота	Вал
$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Лейцин*, α-аміноізокапронова кислота	Лей
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Ізолейцин*, α-аміно-β-метилвалеріанова кислота	Іле
$\begin{array}{c} \text{HOCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Серін, α-аміно-β-гідроксипропіонова кислота	Сер
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \quad   \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Треонін*, α-аміно-β-гідроксималяна кислота	Тре
$\begin{array}{c} \text{HOOCCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Аспарагінова кислота, амінобурштинова кислота	Асп
$\begin{array}{c} \text{HOOCCH}_2\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Глутамінова кислота, α-аміноглутарова кислота	Глу
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Орнітин, α,δ-діаміновалеріанова кислота	Орн
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Лізин*, α,ε-діамінокапронова кислота	Ліз
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{NCNH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}-\text{COOH} \\    \quad   \\ \text{NH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Аргінін, α-аміно-δ-гуанідиновалеріанова кислота	Арг
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{NCCCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\    \quad   \\ \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Аспарагін, β-амід аспарагінової кислоти	Аспн

Важливою особливістю амінокислот є їх здатність до поліконденсації, що приводить до утворення поліамідів, в тому числі пептидів, білків, нейлону, капрону, енанта [24].

Амінокислоти входять до складу спортивного харчування і комбікорми. Амінокислоти застосовуються в харчовій промисловості в якості смакових добавок, наприклад, натрієва сіль глутамінової кислоти [25].

Метіонін легко поглинається гепатоцитами, ніж цистеїн, для прямого синтезу глутатіону і, таким чином, діє як амінокислота попередника для цієї низькомолекулярної амінокислоти (Meister, 1981). Глутатіон захищає клітини від окисного ушкодження і відіграє важливу роль у детоксикації (Reed, 1990). Крім того, тіольна група метіоніну може хелатувати свинець з тканин [26].

#### *Переваги аналізу амінокислот:*

1. Кристалічні речовини, краще розчиняються у воді, ніж в органічних розчинниках, мають досить високі температури плавлення; багато з них мають солодкий смак. Ці властивості чітко вказують на солеподібний характер цих сполук. Особливості фізичних і хімічних властивостей амінокислот обумовлені їх будовою - присутністю одночасно двох протилежних за властивостями функціональних груп: кислотної і основної.

2. Структурнопослідовні.

3. Можуть бути використані для кількісного визначення білків і пептидів, ідентифікації білків або пептидів на основі їх амінокислотного складу, структурного аналізу білків і пептидів, оцінки стратегій фрагментації для картування пептидних залишків і виявлення атипових амінокислот, які можуть бути присутніми в білках або пептидах.

### **1.3 Механізм дії антиоксидантів**

#### **1.3.1 Механізм дії природних антиоксидантів**

Антиоксидантна активність залежить від багатьох факторів – від концентрації антиоксидантів, температури, тиску  $O_2$ , присутності інших антиоксидантів та природи компонентів харчових продуктів. Ефективність антиоксидантів захоплювати вільні радикали, що містяться в харчових продуктах, залежить від  $E_{\text{дисоціації}}$  зв'язку О-Н фенольного ядра та рН, що пов'язано з  $K_{\text{дисоціації}}$  кислот та відновлювальним потенціалом антиоксидантних радикалів [27]. Як приклад, антиоксидантна активність фенольних кислот – кавової, протокатехінової та хлорогенової залежить від величини рН: в кислому середовищі вони не проявляють ефект, але в межах рН 7-8 їх активність значно зростає [27]. В лужному середовищі фенольні кислоти іонізуються з утворенням єнолята.

#### **1.3.2 Взаємодія антиоксидантів при окисненні харчових продуктів**

Два антиоксиданти, що істотно відрізняються між собою енергією дисоціації відповідного зв'язку, відносяться до синергетичних антиоксидантів [27]. Регенерація антиоксиданту відбувається тим швидше, чим більше  $E_{\text{дисоціації}}$  зв'язку О-Н синергіста в порівнянні з первинним антиоксидантом [27, 31]. Такий антиоксидант також регенерується, якщо константа швидкості цього процесу становить принаймні  $10^3$  л/моль·с, а константа швидкості взаємодії з пероксильними радикалами приблизно дорівнює швидкості взаємодії з антиоксидантними радикалами [27, 32]. Регенерація завершується при перенесенні електрона з молекули синергіста на антиоксидант [28].

Синергетичний антиоксидантний ефект з'являється, коли один з антиоксидантів швидко окиснюється, таким чином захищаючи інший [27]. Менш активний антиоксидант захоплює алкіл і алкілпероксильні радикали харчових продуктів, що призводить до більш ефективного антиоксиданту. В

іншому випадку антиоксидантний радикал, що утворюється внаслідок окиснення менш ефективного антиоксиданту, конкурує з більш ефективними в реакціях з алкілпероксильними радикалами, знижуючи ступінь окиснення більш ефективного антиоксиданту [27]. Взаємодія між токоферолами і каротиноїдами також частково проходить за цим механізмом [27, 33].

Якщо в системі присутній два або більше число антиоксидантів, механізм дії яких різний, також спостерігається ефект синергізму [27]. Яскравий приклад цього — комбінація сполук, що утворюють хелати металів і вільнорадикальних пасток. Речовини, що зв'язують метали, зокрема фосфоліпіди, гальмують окиснення, обумовлене дією металів, знижуючи загальну кількість вільних радикалів [34]. Сполуки, що утворюють хелати, діють на стадії ініціювання окиснення, а пастки - на стадії розвитку ланцюга [27]. Фосфатидилінозитол діє синергістом в суміші з токоферолами, знижуючи ступінь окиснення ліпідів, в основному за рахунок утворення неактивних комплексів з металами, здатних посилювати окиснення [35]. Кверцетин і  $\alpha$ -токоферол проявляють синергізм, гальмуючи окиснення жиру, згідно з механізмом по якому  $\alpha$ -токоферол слугує радикальною пасткою, а кверцетин з металами діє як комплексоутворювач [27].

Токоферол і аскорбінова кислота часто повідомляються як синергічні за своїми антиоксидантними властивостями, в яких аскорбінова кислота діє не тільки як первинний антиоксидант, але також як донор водню для радикалу токоферолу. Згідно [29], принаймні 0,01 ~ 0,02% аскорбінової кислоти необхідна для отримання значного синергічного ефекту з  $\delta$ -токоферолом у стабілізації риб'ячого жиру.

Специфічні структури гістидину та лізину підвищують ефективність розгалужених гістидино-лізинових пептидів (РГЛП) як протигрибкових засобів. В[30] продемонстровано, що додавання цільового ліганду до РГЛП значно підвищило протигрибкову активність. УФ поглинання поступово збільшується з кількістю  $\text{AgNO}_3$ , що додають до РГЛП, що вказувало на формування адукту.



Комбіноване дослідження з двома найбільш сильними агентами, куркуміном і кверцетином, в 4 ракових клітинних лініях, показало синергічний ефект на проліферацію клітин з декількома кратними зниженнями в  $IC_{50}$  [36].

Згідно з літератури, поліфеноли зеленого чаю є хорошими антиоксидантами проти вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів в розчині, в міцелах, в людських еритроцитах, в людському ліпопротеїні низької щільності, і що антиоксидантна активність цих поліфенолів значною мірою залежить від структури молекул, умов ініціювання і мікрооточення реакційної середовища [37]. Ці поліфеноли зеленого чаю можуть синергічно взаємодіяти з  $\alpha$ -токоферолом (вітаміном E) для підвищення антиоксидантної активності.

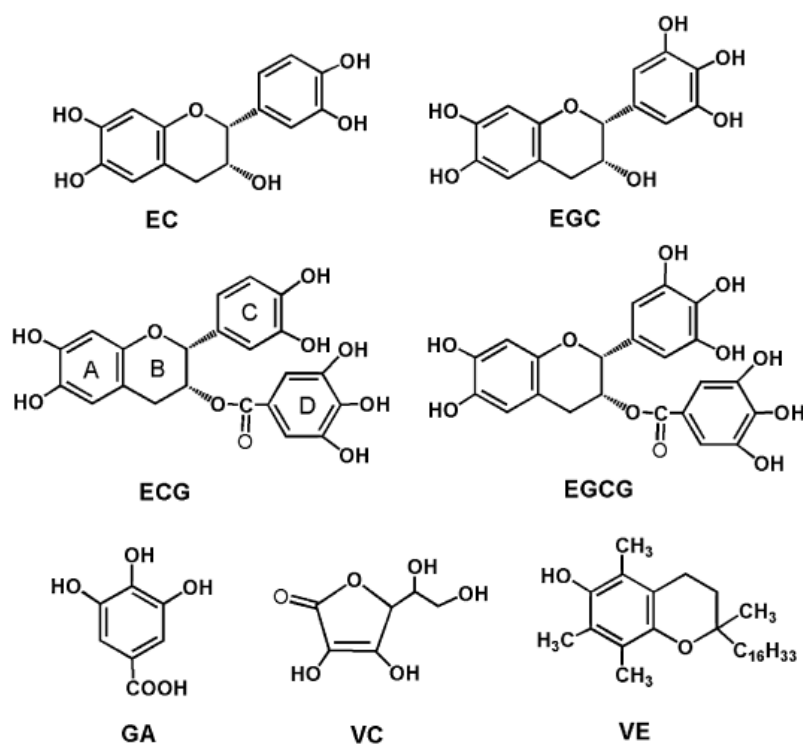


Рис. 1.3 — Молекулярні структури: EC — епікатехін; EGC — епігалокатехіни; ECG — епікатехін галат; EGCG — епігалокатехіна галат; GA — галова кислота; , VC — L-аскорбінова кислота (вітамін C); [37].

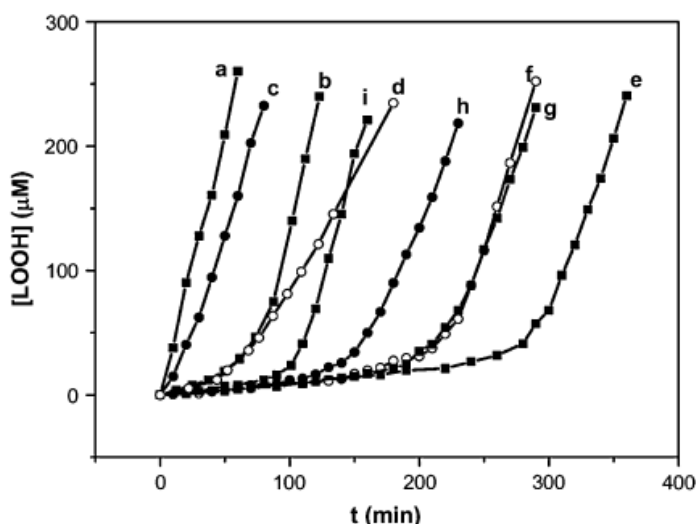


Рис. 1.4 — Утворення сумарних гідропероксидів (LOOH) при перекисному окисненні лінолевої кислоти (LH) в 0,1 М SDS міцели при pH 7,4 і 37 °C, ініційованої AAPH і інгібується поліфенолами зеленого чаю (GOH), VC і  $\alpha$ -токоферол (ТОН).

З рис.1.4 початкові концентрації речовин становили  $[LH]_0 = 15.2 \text{ mM}$ ,  $[AAPH]_0 = 6.3 \text{ mM}$ ,  $[GOH]_0 = 10 \text{ mM}$ ,  $[VC]_0 = 10 \text{ mM}$ ,  $[ТОН]_0 = 7.5 \text{ mM}$ . На кривій а ілюструється неприпинене перекисне окислення; на кривій b інгібується за допомогою ТОН; на кривій c — за допомогою VC; на кривій d — за допомогою EGCG; на кривій e — за допомогою EGCG, VC і ТОН; на кривій f — за допомогою ECG, VC і ТОН; на кривій g — за допомогою EGC, VC і ТОН; на кривій h — за допомогою ЕС, VC і ТОН; на кривій i — за допомогою GA, VC і ТОН.

Комбінація рутину з іншими — гідрофільними або ліпофільними — антиоксидантами призводить до синергічного захисту ліпопротеїдів низької щільності (LDL) від окислення ліпідної частини, а також білкової частини [38].

## **1.4 Методи оцінки антиоксидантної активності**

Методи дослідження загальної антиоксидантної активності (АОА) розрізняються за типом джерела окиснення, окиснювальної сполуки і способу вимірювання окисненої сполуки. Ці методи дають широкий набір результатів, які не можна використовувати окремо, а результати повинні бути інтерпретовані з обережністю.

За способами реєстрації прояву антиоксидантної активності можна розділити методи на волюмометричні [39], фотометричні [40,42], хемілюмінесцентні [14-16], флуоресцентні [17-22], електрохімічні [23-28] і ряд більш специфічних [29-35].

### **1.4.1 Електрохімічні методи**

Простий електрохімічний спосіб визначення антиоксидантної активності флавоноїдів, заснований на вимірюванні потенціалу напівхвилі окиснення на проточному стовпчику електрода, запропонований авторами [27]. Повідомляється, що електрохімічна активність сполук корелює зі здатністю пригнічувати перекисне окиснення ліпідів.

Електрохімічні методи оцінки загальної антиокисної активності (АОА) можуть бути розділені на дві групи. У частині методів використовується тільки електрохімічна реєстрація будь-якої сполуки, зміна концентрації якої опосередковано пов'язано з протіканням процесів окиснення [23-26]. Інша група методів [27-29] заснована на безпосередньому вимірі окисно-відновних потенціалів. Вказується, що ці параметри в цілому корелюють з АОА і можуть бути використані для її оцінки.

У різних методах визначаються або окремі антиокисні компоненти (наприклад, вітамін Е, аскорбінова кислота і т.д.), або загальна антиокисна активність. Загальна антиокисна активність може бути встановлена кількома методами: по поглинанню кисню при перекисному ліпідному окисненні [39], окисненню кроцину [40,41], хемілюмінесценції з люмінолом [42,43], окисненні

R-фікоеритрину [44], чутливості еритроцитів до гемолізу [45], що відновлює залізо активності [46], генеруванні ліпідних перекисів [47,48].

*Потенціометричні методи.* Визначення антиоксидантних властивостей розчинів потенціометричним методом засновано на хімічній взаємодії антиоксидантів з медіаторною системою, в якості якої використовується суміш  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ .

*Амперометричні методи.* Для визначення поліфенолів цим методом в вині був запропонований простий електрохімічний датчик на основі поліфенолпероксидази [42]. В якості стандартної речовини використовували галову кислоту. Також цим методом визначено сумарну кількість антиоксидантів в екстрактах лікарських трав, чаїв, кави, вині, коньяку, бальзамах, пиві, овочах, фруктах, ягодах.

*Вольтамперометричні методи.* Вольтамперометрія – метод аналізу, що заснований на визначенні залежності струму поляризації від напруги, який прикладається до електрохімічної комірки, коли електродний потенціал робочого електрода значно відрізняється від рівноважного значення. Цей метод використовується для визначення антиоксидантної активності фенольних сполук, таких як кардол, карданол, отриманих з горіхів кеш'ю. Найкращі результати показав кардол [37].

Таким чином, електрохімічні методи практичні, відрізняються низькою вартістю та ефективні для оцінки антиокисних властивостей.

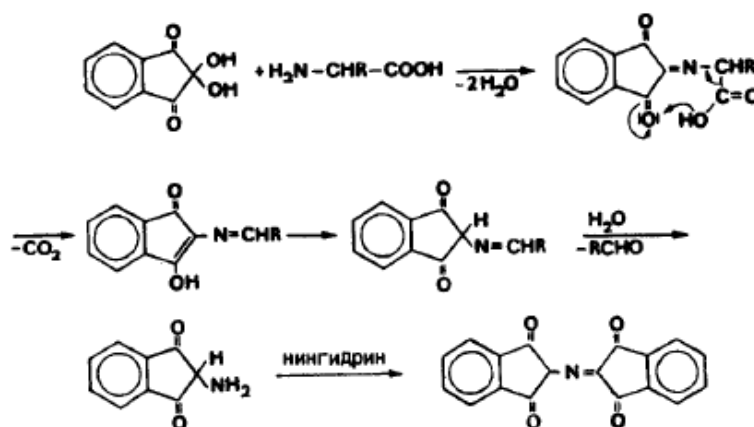
#### **1.4.2 Хроматографічні методи**

При хроматографічному розділенні суміші речовин в рухомій фазі транспортується через стаціонарно закріплену (нерухому) фазу. При цьому компоненті суміші через відмінності в будові, розчинності, полярності або заряду вступають в специфічну взаємодію з нерухомою фазою, яке обумовлює різні швидкості транспорту компонентів. Відповідно до агрегатного стану рухомої фази розрізняють рідинну хроматографію (РХ) і газову хроматографію

(ГХ). Крім того, за сукупністю можливих комбінацій розділення розрізняють наступні види хроматографії: рідина - тверда фаза (РТХ), рідина-рідина (РРХ), газ - тверде тіло (ГТХ) і газорідинну (ГРХ).

Ідентифікація амінокислот відбувається в більшості випадків за допомогою забарвлених, флуоресційованих похідних або за допомогою радіоактивних реагентів [49]. Особливо важливими є реакції з нингідрином і флуорескаміном.

У разі реакції з нингідрином утворюється синьо-фіолетове забарвлення (максимум поглинання 570 нм; для проліну 440 нм) в результаті взаємодії α-аміногрупи і реагенту за схемою:



В [50] етанольний екстракт гістидину, ліофілізований MRP (водн.) відокремлювали за допомогою препаративної зворотної фази вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з 0,05 М фосфатним буфером (рН 4,4) / вода / ацетонітрил градієнтної системи. Антиоксидантну активність елюату вимірювали за допомогою методу DPPH, а фракцію А з антирадикальною активністю далі очищали препаративної ВЕРХ. Фракція В була зібрана, і його ліофілізований залишок проявляв сильний антирадикальну активність, який був значно більший, ніж на тому ж рівні n-пропілгалат.

Методом тонкошарової хроматографії (ТХ) можна швидко розділити амінокислоти; метод вимагає нескладного устаткування і малих вихідних кількостей. Для виготовлення шарів товщиною 0,1 - 0,3 мм застосовують стандартні носії, такі, як силікагель, оксид алюмінію, порошок целюлози,

іонообмінники на основі целюлози, поліаміди, а також поліакриламідний і декстрановий гелі. При визначенні дуже малих кількостей амінокислот застосовують прояв ТХ-пластинки флуорескаміном [розчин 10 мг флуорескаміна в суміші ацетон / гексан (1: 4)] [41]. Після елюювання відповідним розчинником спостерігають флуоресценцію при 366 нм. Межа виявлення методу при прояві за допомогою похідного флуорескаміна 10 пмоль. Особливо легко і швидко вдається розділити суміш амінокислот за допомогою комбінації двовимірного розподілу, наприклад тонкошарового електрофорезу на целюлозі і хроматографії (метод «відбитків пальців»). Спочатку проводять електрофорез (низьковольтний електрофорез без охолодження, 20 В / см, мурашина кислота), а потім хроматографію в другому напрямку, наприклад з елюентом складу трет-бутанол: метанол: піридин: мурашина кислота: вода (33: 43: 9,6: 0,4: 20).

#### 1.4.3 Методи оптичної спектроскопії

Метод визначення адсорбційної ємності по відношенню до кисневих радикалів («Oxygen Radical Absorption Capacity »-ORAC) [51] є одним з найбільш вживаних в даний час. Метод заснований на вимірюванні інтенсивності флуоресценції певної сполуки і її зміні від часу протікання реакції. У присутності сполук, що зв'язують кисневі радикали, збільшується час флуоресценції внаслідок захисної дії антиокислювачів. Кількісне визначення антиоксидантної активності (АОА) здійснюється за площею між двома кривими - вільної реакції і з додаванням антиоксидантів (рис. 6).

*Флуорометричні методи.* Метод визначення адсорбційної ємності по відношенню до кисневмісних радикалам (АЄКР) є одним з найбільш вживаних на даний час. Метод заснований на вимірюванні залежності інтенсивності флуоресценції певної сполуки (частіше флуорисцеїна) від часу протікання реакції. У присутності сполук, що зв'язують кисень, збільшується час флуоресценції внаслідок захисної дії антикоокисників. Метод заснований на поглинанні кисневмісних радикалів АЄКР відносно простий і чутливий, але

тривалий за часом (близько 95 хв. на визначення) і вимагає наявності флуоресцентного детектора [52]. 2,2-азо-біс- (2-амідопропан) дигідрохлорид (ААПГ) використовується в якості джерела перекисних радикалів. Модифікацією цього методу є визначення АОЄ зразків за їх здатністю зв'язувати активні радикали, утворені за реакцією Фентона [53]. Методом АЄКР може бути визначена антиокиснювальна активність як водорозчинних, так і жиророзчинних об'єктів, таких як харчові продукти, напої, хімікати, добавки, плазма і сироватка крові. При цьому не потрібно практично ніякої попередньої пробопідготовки за винятком того, що біологічні зразки перед визначенням повинні відповідним чином зберігатися.

Було встановлено, що антиоксидантна активність індивідуальних сполук зменшується в ряді: кверцетин > каваова кислота > галова кислота >  $\alpha$ -токоферол, а для фруктових сполук – полуниця > чорниця > ківі > персики [17]. Для соків брокколи і моркви запропонованим методом визначено прооксидантний ефект, який зникає при кип'ятінні, в результаті чого відновлюються їх антиоксидантні властивості.

*Хемілюмінесцентні методи.* Високою чутливістю (до  $10^{-9}$  моль/л) мають методи аналізу, що засновані на хемілюмінесценції [24]. В цих методиках використовуються реакції за участі перекису водню з пероксидазою з коренів хрину та з залізом(III). Однак, оскільки перекис водню не стабільний та розкладається на повітрі, найбільш розповсюджені методики, що засновані на хемілюмінесцентній реакції між люміналом та ААПГ, що розкладається при нагріванні на 2 вільних радикала [25]. При хемілюмінесцентному визначенні антиоксидантів використовують параметри ЗПАА (загальна потенціальна антиоксидантна активність) та метод ЗАА (загальна антиоксидантна активність) [26]. Вважається, що ЗПАА відображає кількість антиоксидантів в системі, а ОАА – його активність, швидкість взаємодії антиоксиданту з радикалами.

Методом хемілюмінесценції в системі Со (II) – етилендіамінтетраацетат-люмінал вивчено дію 4 антиоксидантів – кверцетину, аскорбінової кислоти, катехіну та каваової кислоти – та їх сумішей, узятих при різних концентраціях,

для проведення прооксидантної та синергетичної активності [28]. Суміш кверцетину та аскорбінової кислоти в співвідношенні 2:1 мала найбільш виражену антиоксидантну дію, в той час як кверцетин та каваова кислота в співвідношенні 1:2 показали найменшу антиоксидантну активність, та відповідно, ця композиція може проявляти прооксидантні властивості. В суміші кверцетину та аскорбінової кислоти більша частина кверцетину не окиснюється на відміну від суміші кверцетину та каваової кислоти. Цей факт свідчить про сильну антиоксидантну активність першої суміші внаслідок ефективної рециклізації кверцетину в реакції відновлення хінона аскорбіновою кислотою.

*Спектрофотометричні методи.* В [30] протигрибкову ефективність розгалуженого гістидин-лізинового пептиду (bHKP) визначали шляхом вимірювання зростання грибкових клітин у 96-лункових мікротитраційних зчитувальних планшетах. Грибкові клітини розводили при  $5 \cdot 10^4$  клітин / мл в середовищі RPMI 1640-MOPS (20 мМ, pH-7.0) Додавали 90 мл суспензії клітин або спорів до 96-лункового культурального планшета. bHKP (10 мл) додавали в кожен лунку, добре перемішували і потім інкубували при кімнатній температурі протягом 24 год. Після інкубації, помутніння суспензії, міра грибової. Ріст був виміряний при 590 нм зчитувачем мікропланшетів. Мінімальну інгібуючу концентрацію (MIC) визначали як найнижчу концентрацію пептиду або комбінації пептид/срібло, що призводило до принаймні 95% інгібування від необробленого контролю, тоді як MIC<sub>50</sub> визначали як концентрацію пептиду, що призводило до 50% інгібування контролю. MIC і всі додавання bHKP і срібла включають їх солі, які становлять приблизно 40% від їх ваги.

Виходячи з цього, спектроскопія в УФ- та видимій області – простий, ефективний та відносно недорогий метод. Велика кількість різновидів спектроскопічних методів дозволяє проводити не лише кількісні визначення вмісту флавону в об'єктах різної природи, а й досліджувати їх структуру.



## **Висновки до розділу 1**

Проаналізовано застосування антиоксидантів в харчових продуктах, обрано оптимальний тип сполук для визначення їх в харчових продуктах за їх хімічними та фізико-хімічними властивостями. Показано механізм дії природних антиоксидантів та взаємодія антиоксидантів при окисненні харчових продуктів. Показаний синергетичний ефект між антиоксидантами різної природи та будови та обрані водорозчинні, одного класу сполуки(амінокислоти) для дослідження. Проаналізовані методи оцінки антиоксидантної активності та обрано найоптимальніший та найпростіший для даного типу сполук.

## РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

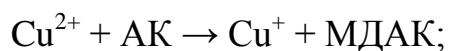
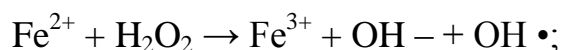
### 2.1 Об'єкти досліджень

Більшість амінокислот в аналітичній хімії є комплексоутворювачами. Так, етилендіамінтетраоцтова кислота (трилон Б) є сильним комплексоутворювачем, застосовується для аналізу неорганічних солей, а також є понижувачем жорсткості води.

Для дослідження взято аскорбінову кислоту як стандартний антиоксидант та водорозчинні амінокислоти - гістидин, L-карнітин, L-серин та L-лізин.

*Аскорбінова кислота* (харчова добавка Е300) є органічною сполукою і грає важливу роль в раціоні людини, сприяючи нормальному функціонуванню сполучної і кісткової тканини. Крім того, вона виконує антиоксиданту роль. L-Аскорбінова кислота (АК), є ключовим антиоксидантом, кофактором редокс-ферментів і попередником біосинтезу деяких важливих метаболітів [54].

Еволюційно рівень L-аскорбінової кислоти збільшувався від еукаріотичних водоростей і мохів (0,1-1,0 ммоль / л) до вищих рослин (3-45 ммоль/л), імовірно набуваючи роль центрального антиоксиданту клітини в аеробних умовах існування [55]. Більш того, АК виступає в ролі найважливішого відновлювального агента для заліза, міді і, можливо, інших металів з перехідною валентністю як всередині клітини, так, ймовірно, і зовні. Відновлені перехідні метали можуть вступати в реакцію з  $\text{H}_2\text{O}_2$  і знову окислюватися, при цьому продукуючи АФК:



Вітамін С широко застосовується в харчовій і фармакологічній промисловості, медицині і деяких галузях технічної діяльності. Нерідко аскорбінову кислоту включають до складу косметичних засобів, особливо тих, що сповільнюють процеси старіння, утворюють пігментні плями, посилюють регенерацію клітин [54].

Антиоксидантна активність *гістидину* (рис.2.1) та його похідних протягом багатьох років вивчалася *in vitro* та *in vivo* при різних способах генерування вільних радикалів. Дослідження на модельних системах показали, що гістидинвмісні похідні (ГВП) здатні подавляти перекисне окислення мембранних пептидів, викликане як ферментативним, так і не ферментативним шляхом [56]. ГВП не тільки можуть акцептувати АФК, але й хелатувати йони металів, які каналізують утворення активних частинок. Карнозин проявляє більше протекторну дію в випадку  $\text{Cu}^{2+}$ -опосередкованого генерування вільних радикалів в порівнянні з  $\text{Fe}^{2+}$ -ініційованим процесом [57].

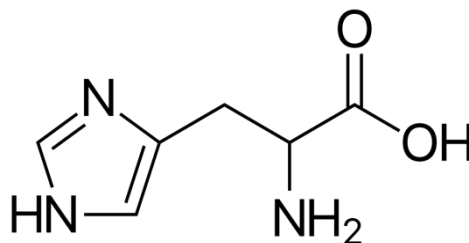


Рис. 2.1 — Молекула гістидину

Для людини ГВП проявляють стимулюючу дію на травні залози, а також формують специфічний смак і аромат м'яса [58].

*L-карнітин* (рис. 2.2) — антиоксидант, завдяки якому організм справляється зі шкідливими сполуками. Також покращує роботу серця і шлунково-кишкового тракту, допомагає справлятися зі стресами, знижує рівень холестерину. *L-карнітин* має цілу низку сприятливих для спортивної фармакології ефектів: протиішемічну, стимулюючу еритропоез, мікроциркуляцію, кардіопротекторну і антиоксидантну дію [59].

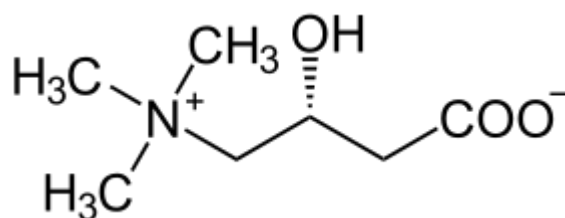


Рис. 2.2. — Молекула L-карнітину

*L-серин* (рис.2.3) бере участь в утворенні активних центрів ряду ферментів (естераз, пептидгідролаз), забезпечуючи їх функцію. З нього синтезується цистеїн за участю метіоніну як джерела сірки, а також АТФ і вітаміну В<sub>6</sub>. В [60] визначали показники індукованої біохемілюмінесценції і вміст малонового діальдегіду в тканинах кішківника, печінки, селезінки, головного мозку експериментальних тварин на фоні введення поєднань препаратів заліза – сульфат феруму + серин (актиферрин) або феруму (III) гідроксид полімальтозат (мальтофер) - з антиоксидантами – етилметилгідроксипірідина сукцинатом (мексидол) або вітаміном Е (токоферолу ацетат).

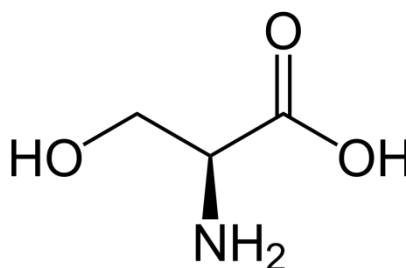


Рис. 2.3 — Молекула L-серину

*L-лізин* (рис. 2.4) належить до числа природних незамінних амінокислот, є будівельним матеріалом для синтезу всіх білків організму. L-лізин грає важливу роль в забезпеченні абсорбції кальцію, в утворенні білків м'язів, а також в утворенні гормонів, ферментів і антитіл. Дефіцит лізину несприятливо позначається на синтезі протеїну, що призводить до стомлюваності, втоми і

слабкості, поганому апетиту, уповільнення росту і зниження маси тіла, нездатності до концентрації, дратівливості, крововиливів в очне яблуко, втрати волосся, анемії і проблем в репродуктивній сфері. Також продукт «Л-Лізин» забезпечує антиоксидантний захист структур очей і покращує мікроциркуляцію і кисневе постачання сітківки ока.

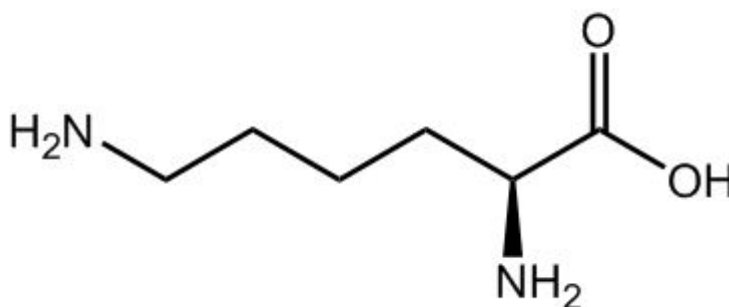


Рис. 2.4 — Молекула L-лізину

L-Метіонін (рис. 2.5) є незамінною амінокислотою. Є прекурсором цистеїну (утворюється з серину за участю метіоніну як сірковмісна амінокислота) і таурину (утворюється з цистеїну). Однією з найбільш важливих перетворень метіоніну це утворення в S-аденозилметіонин або «SAM». SAM бере участь у багатьох різноманітних хімічних реакціях, переносячи частину себе на інші молекули, включаючи ДНК і білки. Після віддачі метильної групи SAM гідролізується до гомоцистеїну, а потім або переметилується до метіоніну, або перенасичується, що призводить до утворення цистеїну, таурину і глутатіону.

Також L-метіонін використовується у виробництві креатину, важливої молекули для клітинної енергії.

Крім того, метіонін відіграє важливу роль в синтезі інших білків, таких як карнітин або мелатонін.

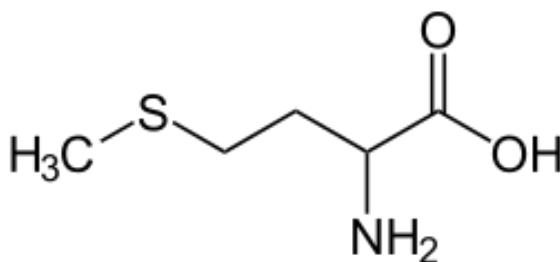


Рис. 2.5 — Молекула L-метіоніну

Наведені амінокислоти використовувалися в подальших дослідженнях.

## 2.2 Методи визначення антиоксидантної активності аскорбінової кислоти та амінокислот

### 2.2.1 Визначення антиоксидантної активності фосфомолібденовим методом

Антиоксидантну активність аскорбінової кислоти та амінокислот — гістидину, L-карнітину, L-серину та L-лізину та L-метіоніну — оцінювали фосфомолібденовим методом [61]. В основу методу покладено відновлення  $\text{Mo}^{6+} + \bar{e} \rightarrow \text{Mo}^{5+}$  аскорбіновою кислотою амінокислотою та утворення комплексу фосфату синьо-зеленого забарвлення Мо (V). Для приготування розчинів використовували концентрації аскорбінової кислоти : 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5 та 10 ммоль/л та амінокислот 1; 2; 5 та 10 ммоль/л гістидину, L-карнітину, L-серину та L-лізину (табл.2.1). Змішували її з 5 мл фосфомолібденового реактиву ( 0,6 М сірчаної кислоти, 4 мМ амоній молібдату та 28 мМ натрій фосфату). Розчин порівняння містив 5 мл реагенту та 0,5 мл води. Всі ємності інкубували на водяній бані при  $T=80-85^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хвилин. Після охолодження зразків до кімнатної температури вимірювали поглинання світла розчинів за довжини хвилі  $\lambda 695$  нм з використанням спектрофотометра СФ-26.

Всі розчини готувалися з вихідних концентрацій аскорбінової кислоти та амінокислот  $C=0,02$  моль/л.

Для визначення синергетичного ефекту в сумішах аскорбінової кислоти та амінокислот об'єм суміші складав 3 мл, об'єм реагенту 5 мл.

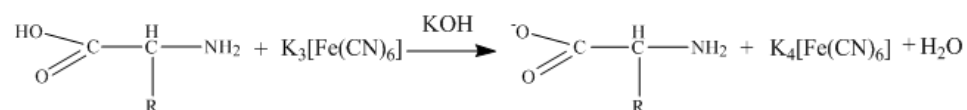
Таблиця 2.1. — Концентрація аскорбінової кислоти та амінокислот в суміші об'ємом 3 мл

Суміш кислот		$C_{Asc}$ , ммоль/л	$C_{Amin}$ , ммоль/л
Аскорбінова кислота, %	Амінокислот а, %		
20,0	80,0	1,50	6,00
30,0	70,0	2,25	5,25
33,3	66,6	2,50	5,00
40,0	60,0	3,00	4,50
50,0	50,0	3,75	3,75
60,0	40,0	4,50	3,00
66,6	33,3	5,00	2,50
70,0	30,0	5,25	2,25
80,0	20,0	6,00	1,50

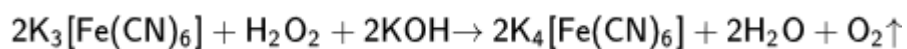
### 2.2.2 Визначення антиоксидантної активності з точки зору відновлювальної сили фериціанідним методом

Відновлення  $Fe(III)$  використовується як індикатор електронно-донорної активності, що є важливим показником антиоксидантних властивостей. Ферриціанідний метод полягає в тому, що визначена кількість червоної кров'яної солі  $K_3[Fe(CN)_6]$  відновлюється досліджуваною сполукою в жовту кров'яну сіль  $K_4[Fe(CN)_6]$ . Реакцію проводять при нагріванні. До розчинів амінокислот об'ємом 0,3 мл, 0,4 мл, 0,5 мл, 0,6 мл, 0,7 мл, ( $C_{вих}=0,05$  М) додавали 3 мл 1 %  $K_3[Fe(CN)_6]$ , змішували з 3 мл 5 %  $KOH$  та нагрівали при температурі 50 °C протягом 20 хв. Розчини аскорбінової кислоти готувались аналогічним чином, але замість  $KOH$  додавалося 3 мл  $H_2O_{дист.}$ . Оптичну густину

розчинів вимірювали за довжини хвилі 480 нм з використанням спектрофотометра СФ-26. Метод заснований на окисленні амінокислоти в лужному середовищі  $K_3[Fe(CN)_6]$  [62]:



Відновлювальну силу оцінювали в порівнянні з поглинанням, виміряним при відновленні  $K_3[Fe(CN)_6]$  до  $K_4[Fe(CN)_6]$  перекисом водню в лужному середовищі:



Відновлювальну здатність (reducing capacity) виражали у відсотках (%) і розраховували так:

$$\text{Reducing capacity}(\%) = 100 - \left( \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100\% \right). \quad (2.1)$$

де  $A_o$  – оптична густина при відновленні  $K_3[Fe(CN)_6]$  за допомогою  $H_2O_2$ ,  
 $A_s$  – оптична густина досліджуваних зразків [63].

### 2.3 Квантово-хімічний метод оцінки антиоксидантної активності амінокислот

Розрахунок геометрії молекул амінокислот здійснювалися за допомогою програми HyperChem. Спочатку геометричну будову молекули оптимізували методом молекулярної механіки MM+, а для розрахунку був обраний метод AM1, що є найліпшим напівемпіричним методом для амінокислот.

Метод AM1 є поліпшенням методу MNDO. Один з найбільш точних методів. Використовується для органічних молекул, що містять елементи з головних підгруп 1 і 2 груп періодичної системи [64]. Цей метод дозволяє отримувати більш якісні результати в порівнянні для молекул, що містять як атоми нітрогену, так і кисню. Метод дозволяє обчислювати електронну



структуру, оптимізувати геометрію, розрахувати повну енергію і теплоту утворення сполуки.

Також розраховувалася величина енергетичного зазору між верхньою заповненою молекулярною орбіталлю (ВЗМО) і нижньою вакантною молекулярною орбіталлю (НВМО). Для кожної амінокислоти були наведені повна енергія та дипольний момент. Розраховувалися заселеності на атомних орбіталях і заряди на атомах молекул амінокислот. Це дозволяє зробити висновок про локалізацію електронної густини та насиченості зв'язку.

## Висновки до розділу 2

Обрані об'єкти дослідження, проаналізовано їх хімічні властивості та біологічна роль. Описані методики антиоксидантної активості та відновлювальної здатності кислот. Обраний оптимальний метод дослідження для квантово-хімічних розрахунків.

## РОЗДІЛ 3.

### РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1 Дослідження антиоксидантних властивостей індивідуальних сполук в залежності від їх концентрації

Оптична густина — міра непрозорості шару речовини товщиною 1 для світлових променів; характеризує ослаблення оптичного випромінювання в шарах різних речовин (барвниках, світлофільтрах, розчинах, газах і т. п).

Закон Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C,$$

де  $\varepsilon$  — молярний коефіцієнт поглинання,  $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ,  $l$  - товщина кювети, см,  $C$  - молярна концентрація розчину, моль/л [65].

Закон Бугера-Ламберта-Бера виведений для дуже розбавлених розчинів, де вплив центрів поглинання незначний: при  $C \geq 0,01$  моль/л взаємодія між частками надто сильна, за якої треба вводити поправочний коефіцієнт. Тому, всі розчини готувалися з  $C \leq 0,01$  моль/л.

Для вимірювання оптичної густини було приготовлено сім розчинів різної концентрації аскорбінової кислоти (  $c_1=0,1$  ммоль/л,  $c_2=0,2$  ммоль/л,  $c_3=0,5$  ммоль/л,  $c_4=1$  ммоль/л,  $c_5=2$  ммоль/л,  $c_6=5$  ммоль/л). Об'єм фосфомолібденового реагенту складав 5 мл.

Результати, отримані за допомогою фосфомолібденового методу, наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. — Результати вимірювання оптичної густини амінокислот взаємодією з фосфомолібденовим реактивом.

C <sub>розч</sub> , ммоль/л	А					
	Аскорбін ова кислота	L- гістидин	L- карнітин	L- серин	L- лізин	L- метіонін
0,1	0,022	-				
0,2	0,033					
0,5	0,061					
1	0,172	0,121	0,085	0,060	0,065	0,151
2	0,376	0,321	0,163	0,114	0,074	0,267
5	0,663	0,540	0,257	0,157	0,096	0,443
10	0,982	0,796	0,392	0,171	0,120	0,530

З табл. 3.1 отримано, що за C=0,1-0,5 ммоль/л проявляє низьку антиоксидантну активність (A<0,1). Тому розчини амінокислот вимірювалися за C=1 – 10 ммоль/л.

На основі отриманих даних побудовані графіки даних сполук для визначення їх оптимальної концентрації спектрофотометричним методом (рис 3.1).

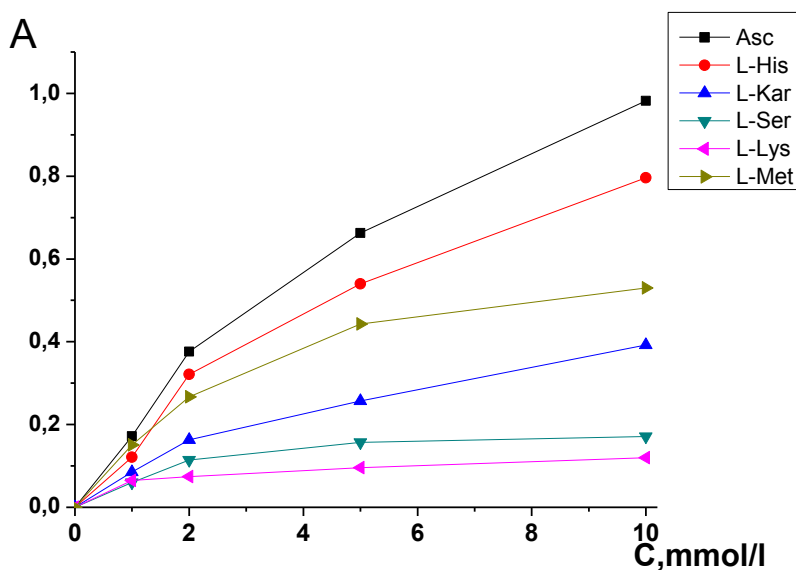


Рис.3.1 — Залежність оптичної густини розчинів амінокислот та аскорбінової кислоти від концентрації за спектрофотометричним методом.

З рис.3.1 видно, що оптимальною концентрацією для вимірювань є  $1 \cdot 10^{-3}$  М, оскільки в цій точці є мінімальна різниця між оптичними густинами амінокислот.

Аскорбінова кислота є стандартним антиоксидантом, тому має максимальну оптичну густину. Найактивнішим антиоксидантом серед амінокислот є L-гістидин ( $A_{\max}=0,796$ ), меншу активність проявляє L-карнітин ( $A_{\max}=0,392$ ), мінімальні активності мають L-серин та L-лізин ( $A_{\max}=0,171$  та  $A_{\max}=0,120$  відповідно).

Результати, отримані фериціанідним методом, наведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 — Результати вимірювання оптичної густини ферриціанідним методом,  $A_0 = 0,652$ .

C <sub>розч</sub> , ммоль/л	A <sub>s</sub>					
	Аскорбінова кислота	L- гістидин	L- карнітин	L- метіонін	L- серин	L-лізин
1,5	0,157	0,098	0,112	0,054	0,045	0,157
2,3	0,262	0,145	0,184	0,081	0,052	0,262
3	0,369	0,21	0,252	0,11	0,069	0,369
3,7	0,421	0,274	0,294	0,124	0,095	0,421
4,4	0,484	0,321	0,375	0,153	0,125	0,484

На основі отриманих даних проведений розрахунок відновлювальної здатності за формулою 2.1 та побудовано графік залежності відновлювальної здатності від концентрації сполуки, представлений на рис.3.2.

Результати обчислень наведені в табл.3.3.

Таблиця 3.3 — Результати обрахунку відновлювальної здатності аскорбінової кислоти та амінокислот ферриціанідним методом,  $A_0 = 0,652$ .

C <sub>розч</sub> , ммоль/л	Відновлювальна здатність (reducing power), %					
	Аскорбінова кислота	L- гістидин	L- карнітин	L- метіонін	L- серин	L-лізин
1,5	24,08	15,03	17,18	8,28	6,90	5,83
2,3	40,18	22,24	28,22	12,42	7,98	10,89
3	56,60	32,21	38,65	16,87	10,58	13,65
3,7	64,57	42,02	45,09	19,02	14,57	18,10
4,4	74,23	50,23	57,52	23,47	19,17	20,09

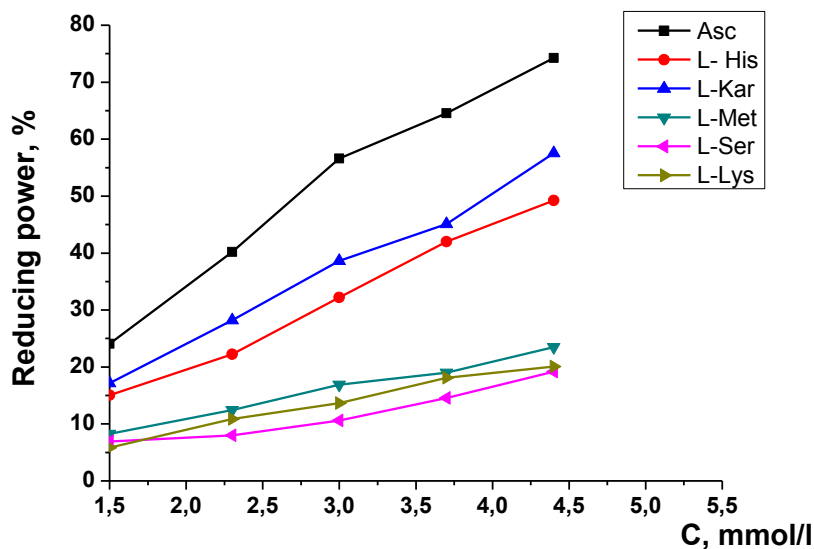
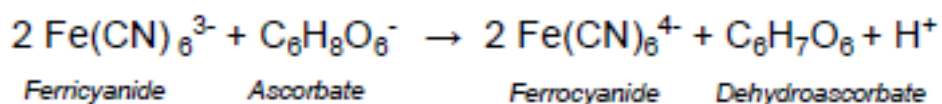


Рис.3.2 — Графік залежності відновлювальної здатності амінокислот та аскорбінової кислоти від концентрації фериціанідним методом

З рис 3.2 видно, що максимальну відновлювальну здатність проявляє аскорбінова кислота ( $RP_{\max}=74,23\%$ ).  $K_3[Fe(CN)_6]$  повністю перейшов в форму в  $K_4[Fe(CN)_6]$ :  $c(K_3[Fe(CN)_6])=0,06\text{ M}$  — при  $c(Asc)=0,03\text{ M}$   $RP\geq 50\%$ . Це означає, що окислення аскорбату до дегідроаскорбату було завершено (100% відновна активність) [63].



Найбільшу відновлювальну здатність серед амінокислот проявили L-гістидин та L-карнітин,  $RP_{\max}$  яких дорівнює 50,23 та 57,52 % відповідно. Це означає, що  $K_3[Fe(CN)_6]$  повністю перейшов в форму в  $K_4[Fe(CN)_6]$  при співвідношенні реагентів L:карнітин:  $K_3[Fe(CN)_6]=1:1$  та L:гістидин:  $K_3[Fe(CN)_6]=1:1$ .

L-метіонін, L-серин та L-лізін проявляють недостатню відновлювальну здатність ( $RP_{\max}\leq 50\%$ ), що вказує на неповне відновлення фероціаніду.

Таким чином, з рис.3.1 та 3.2 можна зробити висновок, антиоксидантна активність проаналізованих сполук зменшується в ряду  $Asc>L-His>L-Kar>L-$

Met>L-Ser>L-Lys. Віднолювальна здатність зменшується в ряду Asc>L-Kar>L-His>L-Met>L-Lys>L-Ser .

З [66] відомо, що у водних середовищах активним центром досліджуваних амінокислот в процесах їх взаємодії з активною формою кисню (АФК) є, в першу чергу, аміногрупа.

Антиоксидантний ефект досліджуваних амінокислот пов'язаний з їх будовою і скоріш за все викликаний утворенням внутрішньомолекулярних водневих зв'язків між фенольним воднем та кисневмісними замісниками [67]. Так, молекула гістидину, маючи замісник в орто-положенні відносно імідазольного залишку, дестабілізує основний стан антиоксиданта і тим самим знижує міцність О—Н зв'язку, що вказує на ефективний донор атома водню. Отже гістидин є гарним антиоксидантом.

Антиоксидантна активність також залежить від балансу між електродонорним ефектом замісників та можливим стеричним затрудненням навколо О—Н групи. Замісники, дестабілізуючи основний стан антиоксидантів, знижують міцність О—Н зв'язку [3]. В молекулі L-карнітину замісники  $N(CH_3)_3^+$  та  $COO^-$  дестабілізують основний стан та розташовані симетрично від О—Н групи, утворюючи стеричне затруднення навколо неї. Таким чином, знижується міцність О—Н зв'язку та підвищується антиоксидантна активність сполуки.

Серин, маючи гідроксиметильний замісник, запобігає зниженню міцності зв'язку О—Н групи, що погіршує його антиоксидантні властивості в індивідуальному стані.

Лізин є позитивно зарядженою полярною амінокислотою, при  $pH=2,2$  переходить в катіонну форму, в разі чого відбувається дестабілізація основного стану, що дає змогу проявляти антиоксидантні властивості (рис.3.3).

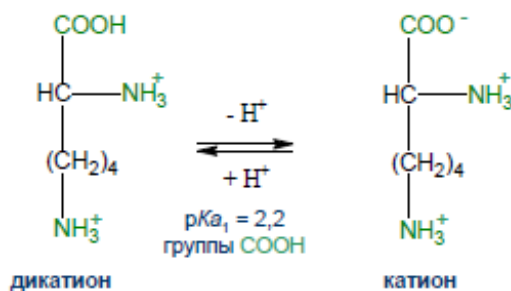


Рис 3.3 — Ізоелектрична точка основної амінокислоти — лізину. [50]

Амінокислоти, що містять сульфгідрильні та гідроксильні групи, також інактивують вільні радикали харчових продуктів [67]. Метіонін завдяки метилсульфідній групі здатен проявляти антиоксидантні властивості.

### 3.2 Дослідження синергетичного ефекту сумішей амінокислот з аскорбіновою кислотою

Аскорбінова кислота є найактивнішим антиоксидантом, в той же час амінокислоти в індивідуальному стані проявляють недостатню активність. Тому виникає потреба в дослідженні синергетичного ефекту сумішей амінокислот з аскорбіновою кислотою.

Антиоксидантну активність синергетичних сумішей на основі амінокислот вимірювали фосфомолібденовим методом. Готувалось сім розчинів з різним співвідношенням аскорбінової кислоти та амінокислоти (табл 3.4).



Таблиця 3.4 — Результати вимірювання оптичної густини синергетичних сумішей на основі амінокислот взаємодією з фосфомолібденовим реактивом

Суміш (100%)		А				
Аскорбінова кислота, %	Амінокислота, %	Asc — L-His	Asc — L-Kar	Asc — L-Ser	Asc — L-Lys	Asc — L-Met
0	100	0,121	0,035	0,060	0,065	0,151
20	80	1,071	1,130	0,115	0,239	1,091
30	70	-	1,193	0,170	0,248	1,148
33,3	66,6	1,161	-	-	-	-
40	60	1,214	1,191	0,249	0,28	0,638
50	50	1,191	1,180	0,221	0,379	0,634
60	40	1,081	0,974	0,164	0,602	0,617
66,6	33,3	1,036	-	-	-	-
70	30	-	0,851	0,131	0,232	0,559
80	20	0,682	0,707	0,121	0,121	0,554
100	0	0,172	0,172	0,172	0,172	0,172

Дослідження оптичної густини розчинів сумішей амінокислот та аскорбінової кислоти представлені на рисунках 3.4 — 3.8.

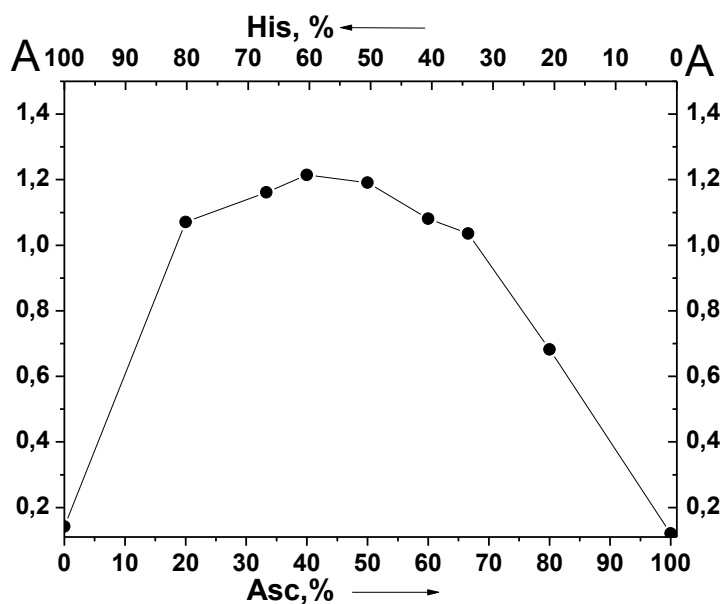


Рис 3.4 — Графік залежності оптичної густини синергетичної суміші аскорбінової кислоти та гістидину в залежності від співвідношення Asc:L-His при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

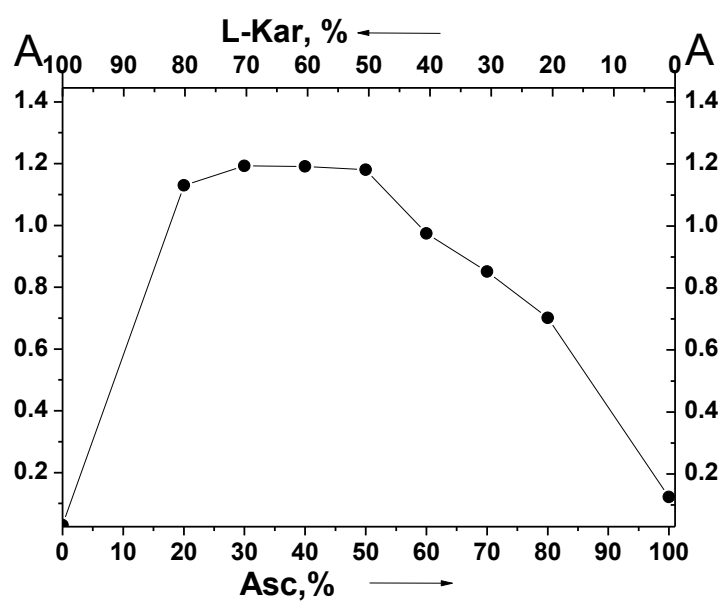


Рис 3.5 — Графік залежності оптичної густини синергетичної суміші аскорбінової кислоти та L-карнітину в залежності від співвідношення Asc:L-Kar при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

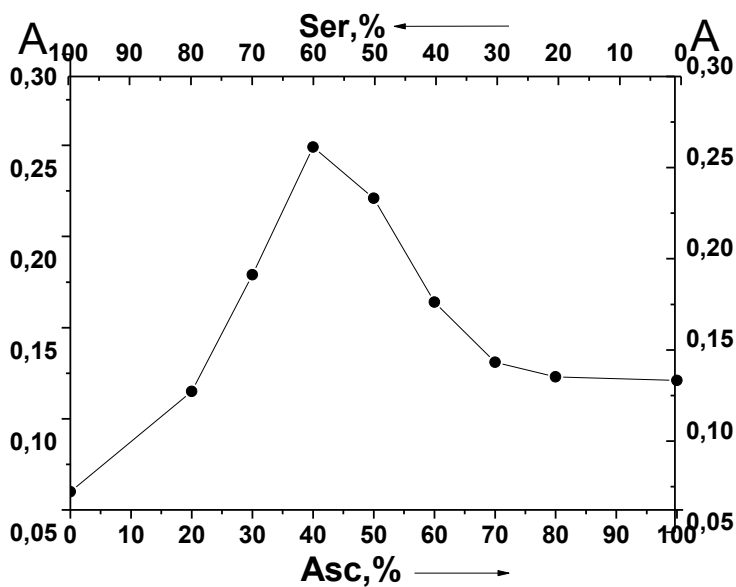


Рис 3.6 — Графік залежності оптичної густини синергетичної суміші аскорбінової кислоти та серину в залежності від співвідношення Asc:L-Ser при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

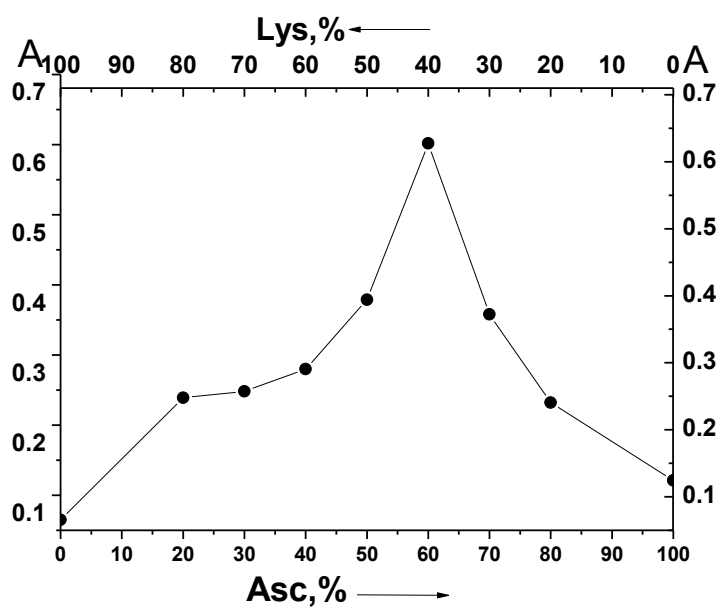


Рис 3.7 — Графік залежності оптичної густини синергетичної суміші аскорбінової кислоти та лізину в залежності від співвідношення Asc:L-Lys при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

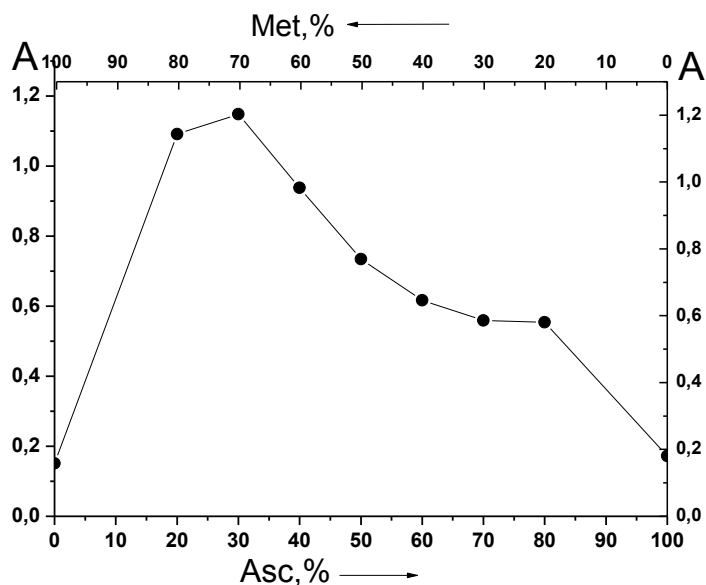


Рис 3.8 — Графік залежності оптичної густини синергетичної суміші аскорбінової кислоти та метіоніну в залежності від співвідношення Asc:L-Met при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

З отриманих даних (рис. 3.4 — 3.8) показано, що оптична густина сумішей амінокислот з аскорбіновою кислотою порівняно з індивідуальними сполуками інтенсивно зростає. Максимальна оптична густина  $A_{\max}$  в суміші аскорбінової кислоти та L-гістидину спостерігається при співвідношенні Asc:L-His=2:3 (40%:60%) — 1,191, в суміші аскорбінової кислоти та L-карнітину — 1,193 при Asc:L-Kar=3:7 (30%:70%), в суміші аскорбінової кислоти та L-серину — 0,249 при Asc:L-Ser=2:3 (40%:60%), в суміші аскорбінової кислоти та L-лізину — 0,602 при Asc:L-Lys=3:2 (60%:40%), в суміші аскорбінової кислоти та метіоніну — 1,148 при Asc:Met=3:7 (30%:70%).

Аналіз отриманих результатів свідчить, що в сумішах досліджуваних речовин спостерігається явище синергізму. Для його визначення проведені відповідні розрахунки.

Синергетичний ефект оцінювався такими параметрами, як ступінь синергізму та синергетична ефективність:

$$\text{а) ступінь синергізму } n = \frac{AB}{A+B} ; \quad (3.1)$$

$$\text{б) синергетична ефективність } SE = \frac{AB-A-B}{A+B} \cdot 100 \% . \quad (3.2)$$

де А – оптична густина першого компонента,

В – оптична густина другого компонента,

АВ – оптична густина суміші А+В. [68].

Синергізм, що виникає при сумісній дії антиоксидантів, пояснюється переважним окисленням одного антиоксиданта суміші, та відповідно, захистом іншого антиоксиданту. Регенерація більш ефективної радикальної пастки (первинного антиоксиданта) менш ефективної (синергіста) відбувається за рахунок великої різниці відновлювальних потенціалів даних сполук [3]. Так, виходячи з отриманих даних в досліджуваних сумішах первинним антиоксидантом виступає аскорбінова кислота, а синергістом — L-гістидин, L-серин, L-лізин. В суміші аскорбінова кислота:L-карнітин та аскорбінова кислота: метіонін первинним антиоксидантом виступає L-карнітин та метіонін, а синергістом – аскорбінова кислота .

Характеристика синергетичного ефекту сумішей на основі амінокислот представлена в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 — Характеристика синергетичного ефекту сумішей на основі амінокислот

Аскорбінова кислота :Амінокислота	Співвідношенн я (за $A_{\max}$ )	Ступінь синергізму $n$	Синергетична ефективність $SE, \%$
Asc:L-His	2:3	4,1	306
Asc:L-Kar	3:7	5,8	476
Asc:L-Ser	2:3	1,1	7
Asc:L-Lys	3:2	2,5	154
Asc:L-Met	3:7	3,6	255

Поєднання двох або більше речовин не завжди посилює специфічний ефект. Фактично, комбінація двох або більше активних хімічних речовин може виробляти добавку (комбінований ефект дорівнює сумарній ефективності окремих компонентів суміші), синергетичну (комбінований ефект більший за сумарну ефективність окремих компонентів суміші) або антагоністичний (комбінований ефект менший, ніж сумарна ефективність окремих компонентів суміші) ефект. Фактор синергетична ефективність SE оцінює цей специфічний ефект: якщо  $SE < 100\%$  — вказує на антагонізм;  $SE > 100\%$  вказує на синергізм суміші [69].

Ступінь синергізму та синергетична ефективність амінокислот по відношенню до аскорбінової кислоти зменшуються в ряду  $L\text{-Kar} > L\text{-His} > L\text{-Met} > L\text{-Lys} > L\text{-Ser}$ .

Таблиця 3.5 показує, що найефективнішою синергетичною сумішню є аскорбінова кислота:L-карнітин ( $SE=476\%$ ), меншу ефективність проявляють суміші аскорбінова кислота:L-гістидин та аскорбінова кислота:метіонін ( $SE=306$  та  $255$ ). Найменш ефективною синергетичною сумішню є аскорбінова кислота:L-лізин ( $SE=154\%$ ). В суміші аскорбінова кислота:L-серин спостерігається явище антагонізму. Це свідчить про те, що між аскорбіновою кислотою та серином відбувається взаємодія у водному середовищі.

З отриманих даних можна зробити висновок, що двокомпонентна система проявляє більшу антиоксидантну активність, ніж однокомпонентна. Тому також досліджено трьохкомпонентні системи.

Результати досліджень трьохкомпонентних сумішей представлені в таблиці 3.6 та 3.7.

Таблиця 3.6 — Вихідні дані розчинів трьохкомпонентних синергетичних сумішей на основі амінокислот взаємодією з фосфомолібденовим реактивом

№ розчину	Синергетична суміш (100%)			C <sub>Asc</sub> , ммоль/л	C <sub>Amin1</sub> , ммоль/л	C <sub>Amin2</sub> , ммоль/л
	Asc	Амін-1	Амін-2			
1	1	0	0	1,0	-	-
2	0	1	0	-	1,0	-
3	0	0	1	-	-	1,0
4	0,2	0,4	0,4	1,5	3,0	3,0
5	0,4	0,2	0,4	3,0	1,5	3,0
6	0,4	0,4	0,2	3,0	3,0	1,5
7	0,33	0,33	0,33	2,5	2,5	2,5
8	0,6	0,2	0,2	4,5	1,5	1,5
9	0,2	0,6	0,2	1,5	4,5	1,5
10	0,2	0,2	0,6	1,5	1,5	4,5
11	0,5	0,5	0	3,75	3,75	-
12	0,5	0	0,5	3,75	-	3,75

Таблиця 3.7 — Результати вимірювання оптичної густини трьохкомпонентних синергетичних сумішей на основі амінокислот взаємодією з фосфомолібденовим реактивом

№ розчину	А				
	Asc: L-His: L-Kar	Asc: L-His: L-Lys	Asc: L-His: L-Ser	Asc: L-Kar: L-Ser	Asc: L-Kar: :L-Lys
1	0,142	0,142	0,142	0,142	0,142
2	0,121	0,121	0,121	0,035	0,035
3	0,035	0,065	0,06	0,06	0,065
4	1,207	1,823	2,31	1,268	1,194
5	1,113	2,000	2,22	1,398	1,456
6	1,162	1,958	2,31	1,387	1,481
7	1,619	1,102	2,22	1,432	1,444
8	1,823	1,055	2,3	1,538	1,556
9	1,443	0,882	2,22	1,292	1,244
10	1,468	0,826	2,39	1,301	1,215

Продовження таблиці 4.1

11	1,191	1,191	1,191	1,18	1,180
12	1,180	0,379	0,221	0,221	0,379

Результати експериментальних досліджень різних сумішей представлені на графіках 3.9—3.13.

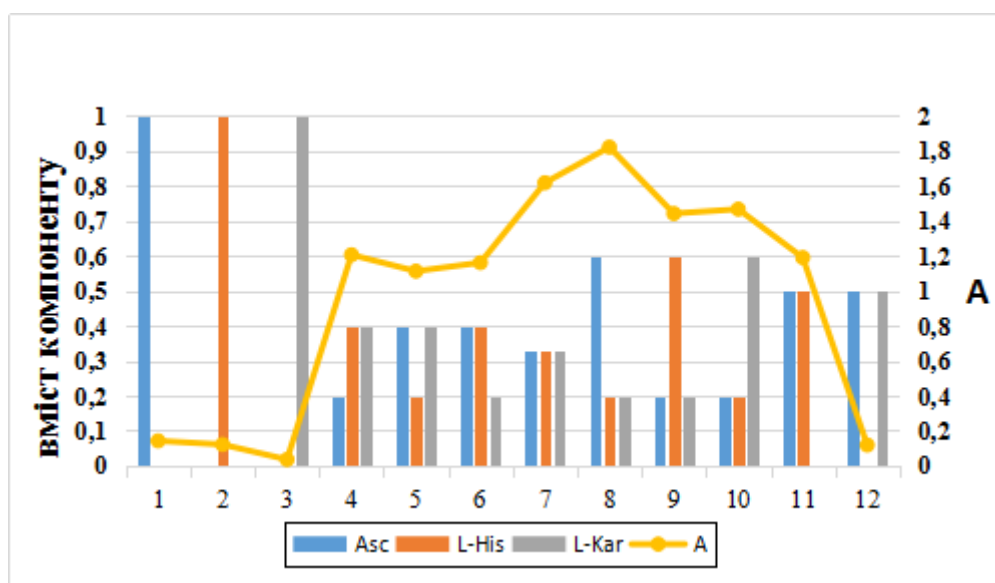


Рис 3.9 — Графік залежності оптичної густини трьохкомпонентної синергетичної суміші в залежності від співвідношення Asc—L-His—L-Kar при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом

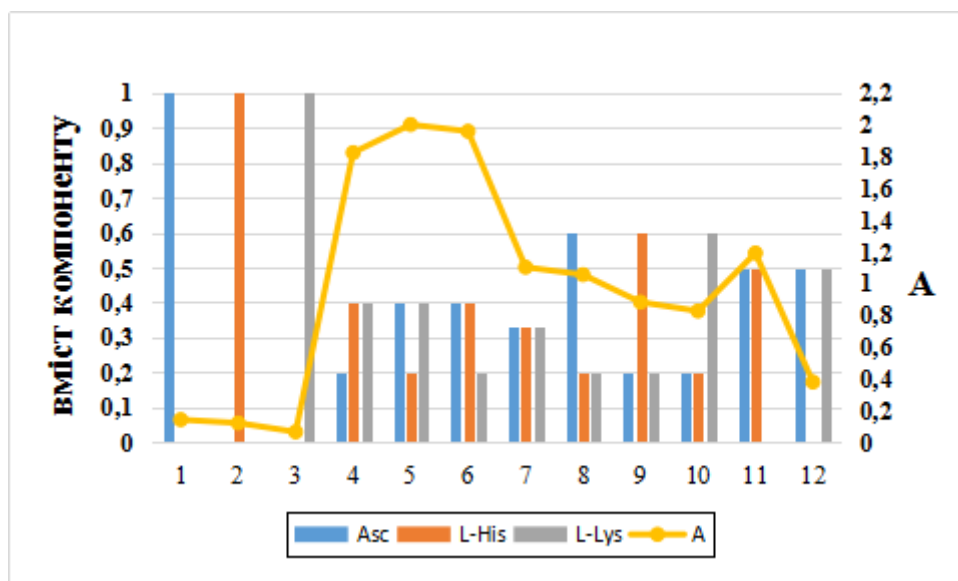




Рис 3.10 — Графік залежності оптичної густини трьохкомпонентної синергетичної суміші в залежності від співвідношення Asc:L-His:L-Lys при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

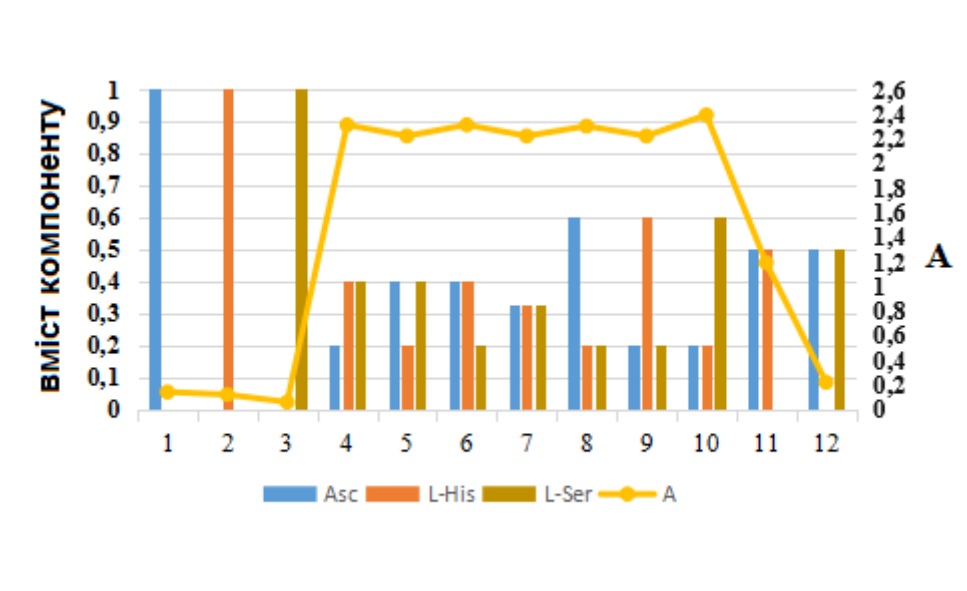


Рис 3.11— Графік залежності оптичної густини трьохкомпонентної синергетичної в залежності від співвідношення Asc:L-His:L-Ser при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

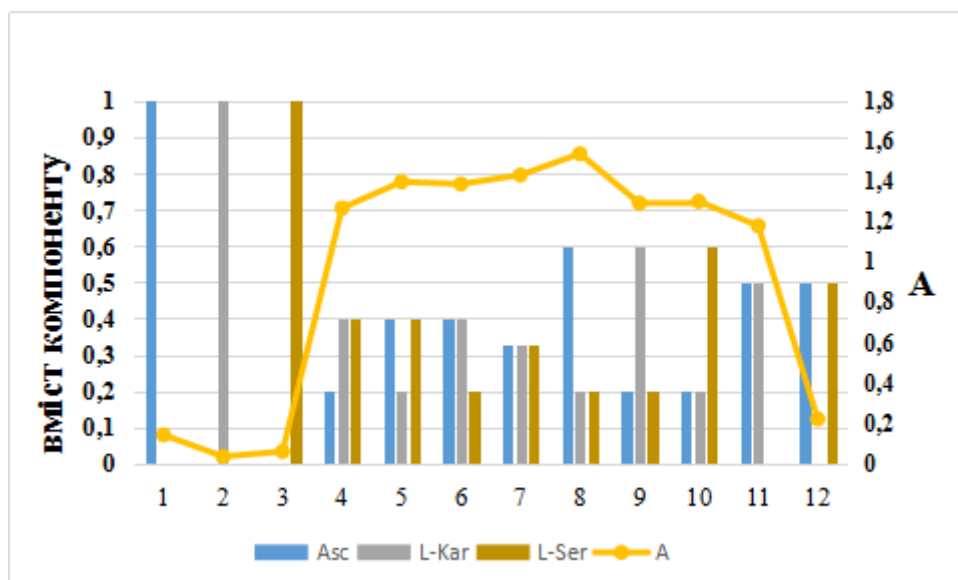


Рис 3.12 — Графік залежності оптичної густини трьохкомпонентної синергетичної в залежності від співвідношення Asc:L-Kar:L-Ser при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом.

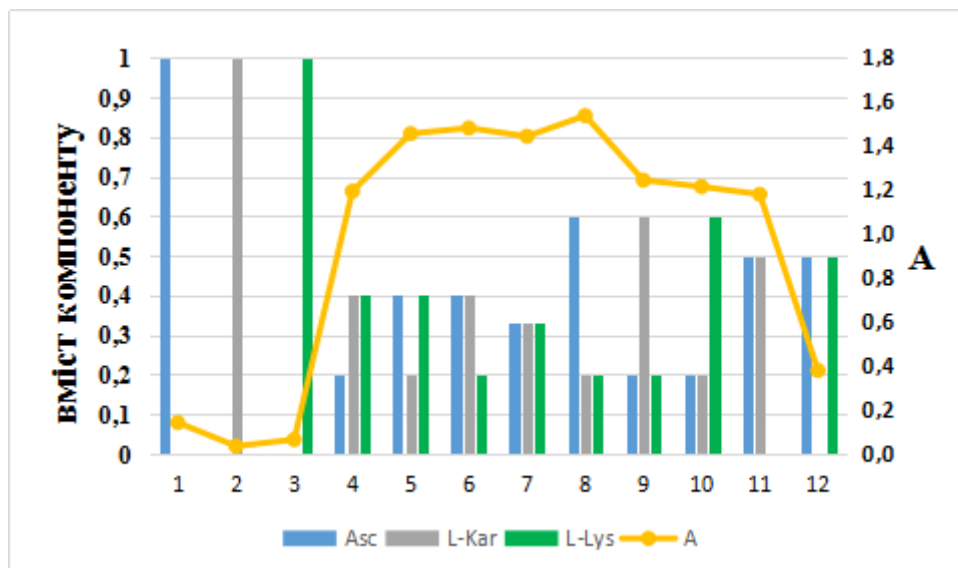


Рис 3.13 — Графік залежності оптичної густини трьохкомпонентної синергетичної в залежності від співвідношення Asc:L-Kar-L-Lys при взаємодії з фосфомолібденовим реактивом

З рис. 3.9 —3.13 можна сказати, що оптична густина трьохкомпонентних сумішей амінокислот з аскорбіновою кислотою порівняно з індивідуальними сполуками та двохкомпонентними сумішами зростає. Максимальна оптична густина  $A_{\max}$  спостерігається при співвідношенні Asc:L-His:L-Kar =3:1:1(60%:20%:20%) —1,823, при співвідношенні Asc:L-His:L-Lys =2:1:1 (40%:20:40%) — 2,000, при співвідношенні Asc:L-Hys:L-Ser =1:1:3(20%:20%:60%) — 2,390, при співвідношенні Asc:L-Kar:L-Ser =3:1:1(60%:20%:20%) — 1,538 , при співвідношенні Asc:L-Kar:L-Lys =3:1:1(60%:20%:20%) — 1,556.

Розрахуємо ступінь синергізму та синергетичну ефективність за формулами (3.1) та (3.2) як для трьохкомпонентної системи:

Таблиця 3.8 — Характеристика синергетичного ефекту сумішей на основі амінокислот

Ascorbic acid : Amino Acid	Співвідно- шення (за $A_{\max}$ )	Ступінь синергізму $n$	Синергетична ефективність $SE$ , %
Asc:L-His:L-Kar	3:1:1	5,6	456
Asc:L-His:L-Lys	2:1:1	5,7	976
Asc:L-His:L-Ser	1:1:3	6,7	1200
Asc:L-Kar:L-Ser	3:1:1	5,8	748
Asc:L-Kar:L-Lys	3:1:1	5,7	757

З табл.3.8 можна зробити висновок, що найбільш ефективною синергетичною сумішшю є Asc:L-His:L-Ser=1:1:3 — 1200 %, найменш ефективною Asc:L-His:L-Kar=3:1:1 — 456 %.

### 3.3. Квантово-хімічні розрахунки молекул аскорбінової кислоти та амінокислот

#### 3.3.1 Оптимізація будови молекул аскорбінової кислоти та амінокислот

Геометричну будову молекул оптимізували методом молекулярної механіки MM+ за допомогою програми HyperChem.

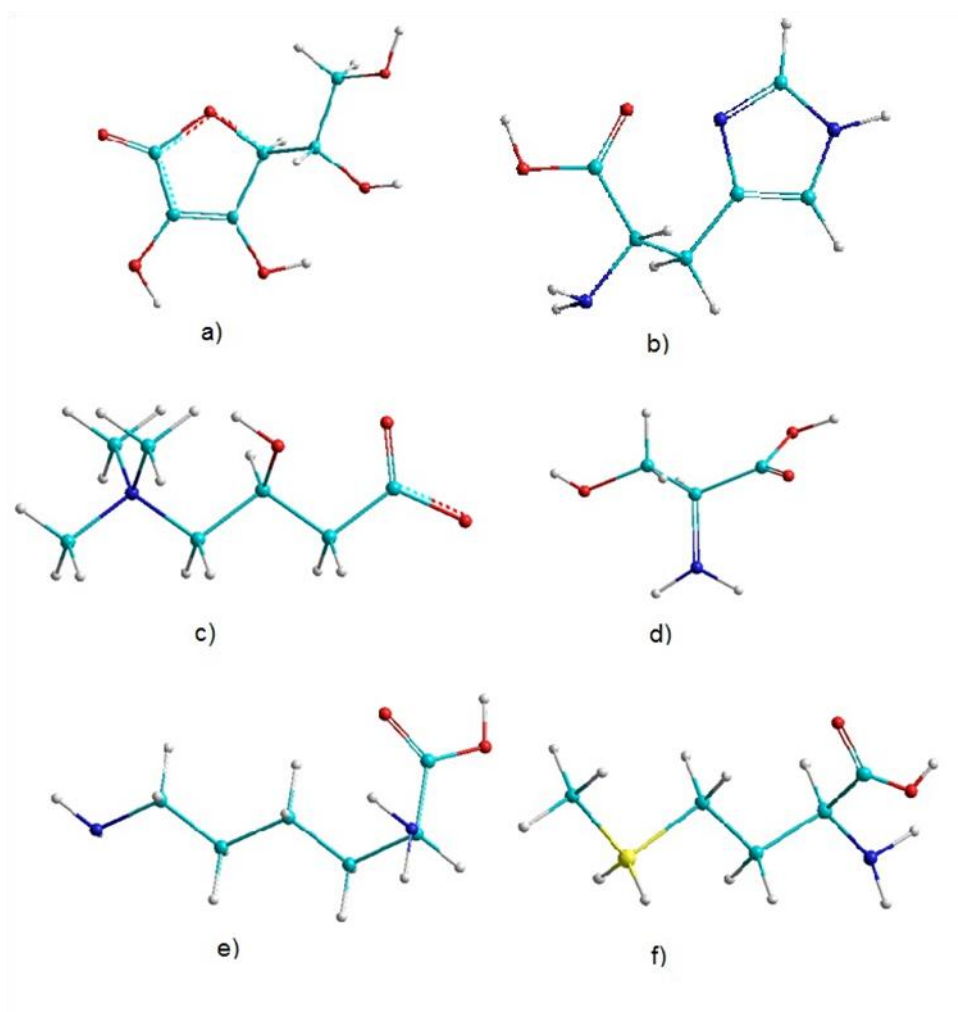


Рисунок 3.14 – Геометрично оптимізовані структурні формули: а) – аскорбінової кислоти, б) – L-гістидину, с) – L-карнітину, d) – L-серину, е) – L-лізину, f) – метіоніну.

Зелений —C, Синій —N, червоний —O, жовтий —S, білий —H.

### 3.3.2 Розрахунки та аналіз квантово-хімічних параметрів аскорбінової кислоти та амінокислот

Розрахунок квантово-хімічних параметрів молекул досліджуваних кислот здійснювалися за допомогою програми HyperChem. Оптимізація геометрії молекул та розрахунок параметрів енергії аскорбінової кислоти та амінокислот проводилася напівемпіричним методом молекулярної механіки MM+. Розрахунок енергії вищої заповненої молекулярної орбіталі ( $E_{\text{HOMO}}$ ) і нижчої вакантної молекулярної орбіталі ( $E_{\text{LUMO}}$ ) здійснювався напівемпіричним методом AM1.

Характеристика будови молекул аскорбінової кислоти(Asc), гістидину (L-His), L-карнітину (L-Kar), L-серину(L-Ser), L-лізину(L-Lys) та метіоніну (Met) наведені в таблиці 1.

Таблиця 3.9 — Характеристики будови та електронної заселеності молекул аскорбінової кислоти та амінокислот

Розрахунковий параметр	Asc	L-His	L-Kar	L-Ser	L-Lys	L-Met
Повна енергія (кДж/моль)	406,07	107,94	545,06	-2,85	37,44	43,09
Енергія зв'язку (кДж/моль)	-2,13	-1,67	-2,25	-1,31	-2,20	-1,42
Електронна енергія (кДж/моль)	-293,54	-187,71	-268,41	-137,19	-112,2	-192,43
Теплота утворення (кДж/моль)	373,94	160,99	226,67	-176,77	105,26	301,05
Дипольний момент (дебай)	4,16	3,98	6,16	2,13	1,61	2,41
$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	-0,52	-2,21	-2,16	-10,15	-9,76	-8,34
$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	-9,56	-8,11	-6,22	+0,91	+0,99	+0,86

Розрахунки з табл.3.9 показали, що повна енергія молекул зменшується в ряду L-Kar>Asc>L-His>Met>L-Lys>L-Ser. Повна енергія L-карнітину є більшою порівняно з аскорбіновою кислотою (545,06 та 406,07 кДж/моль відповідно). Це підтверджує те, що первинним антиоксидантом буде виступати L-карнітин в суміші аскорбінова кислота-L-карнітин.

Дипольний момент зменшується в ряду L-Kar>Asc>L-His>Met>L-Ser>L-Lys. Це свідчить про найбільшу асиметрію розподілу негативного та позитивного зарядів у молекулі L-карнітину.

Аналізуючи значення теплот утворення молекул, можна зауважити, що процес взаємодії з фосфомолібденовим реактивом є ендотермічним ( $\Delta H > 0$ ). Ендотермічний процес буде відбуватися з молекулами аскорбінової кислоти, L-гістидину, L-карнітину, та L-лізину та зменшується в ряду Asc>Met>L-Kar>L-His>L-Lys. Мінімальне їх значення маємо для L-Lys — + 105,26 кДж/моль, а максимальне для Asc — + 373,94 кДж/моль. Екзотермічний процес буде відбуватися з L-серином ( $\Delta H = -176,77$  кДж/моль). Оскільки аскорбінова кислота піддається ендотермічному процесу, а L-серин — екзотермічному, то L-серин буде регенеруватися за рахунок аскорбінової кислоти, що є підтвердженням явища антагонізму в даній суміші (див. табл. 3.3).

Виходячи з розрахунку енергії вищої заповненої молекулярної орбіталі ( $E_{\text{HOMO}}$ ) і нижчої вакантної молекулярної орбіталі ( $E_{\text{LUMO}}$ ), можна засвідчити, що дані кислоти в якості лігандів в комплексі з фосфомолібденовою кислотою будуть проявляти електроноакцепторні властивості. За силою ці властивості будуть зменшуватись в ряду Asc>L-Kar>L-His>Met>L-Ser>L-Lys. Значення енергії  $E_{\text{HOMO}}$  зменшується від Asc до L-Ser ( $E_{\text{HOMO}} = -1,02$  та  $-10,15$  eV, відповідно),  $E_{\text{LUMO}}$  збільшується від Asc до L-Lys ( $E_{\text{LUMO}} = -9,56$  +  $0,99$  eV відповідно).

$E_{\text{HOMO}}$  веде себе як донор електронів, а  $E_{\text{LUMO}}$  — як акцептор. Різниця між енергіями  $E_{\text{HOMO}}$  та  $E_{\text{LUMO}}$  представляє HOMO-LUMO енергетичний розрив. Якщо молекула має невеликий енергетичний зазор, вона показує високу хімічну реактивність [70].

$$\text{HOMO-LUMO} = |E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}}|$$

В таблиці 3.10 наведені параметри енергетичного розриву аскорбінової кислоти та амінокислот.

Таблиця 3.10 — Параметр енергетичного розриву HOMO-LUMO для аскорбінової кислоти та амінокислот

HOMO-LUMO	Asc	L-His	L-Kar	L-Ser	L-Lys	Met
$\Delta E$	9,04	6,11	4,50	11,06	10,75	9,2

З результатів таблиці 3.10 можна зробити висновок, що найбільшу хімічну реактивність серед амінокислот мають L-карнітин та L-гістидин ( $\Delta E=4,50$  та  $6,11$  відповідно).

На основі отриманих даних з табл.3.5 та табл.3.9 досліджено залежність квантово-хімічних характеристик від синергетичних параметрів двохкомпонентної системи, а також від оптичної густини індивідуальних сполук при заданій концентрації.

Результати представлені на рис. 3.15—3.19.

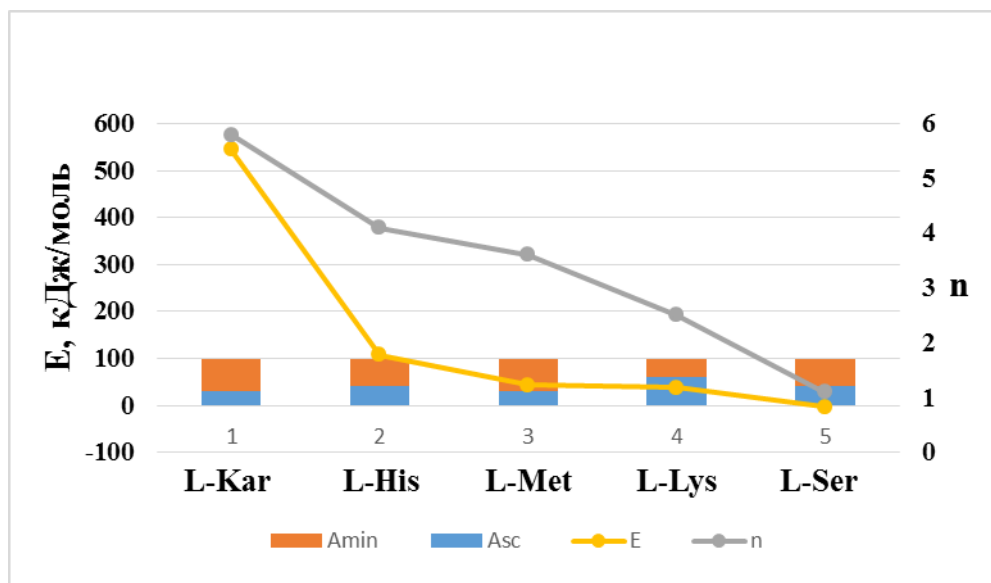


Рис 3.15 — Залежність ступеня синергізму  $n$  в двохкомпонентній системі аскорбінова кислота-амінокислота від повної енергії амінокислот

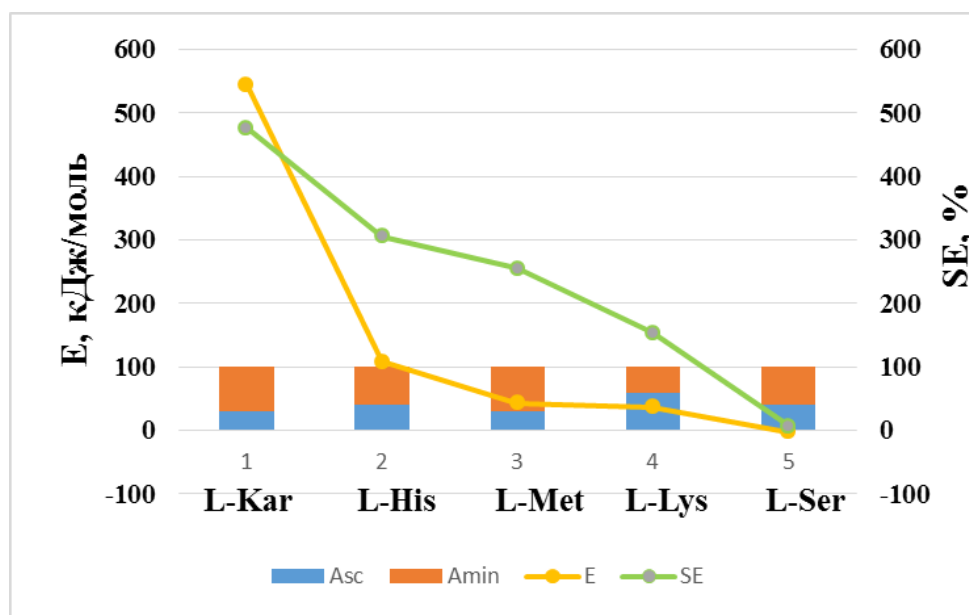


Рис 3.16 — Залежність синергетичної ефективності SE в двохкомпонентній системі аскорбінова кислота-амінокислота від повної енергії амінокислот

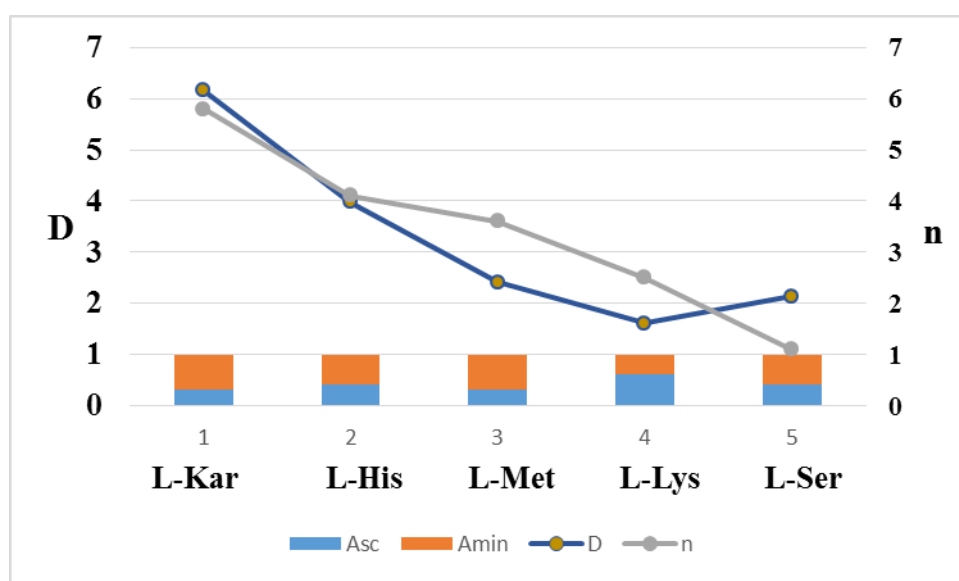


Рис 3.17 — Залежність ступеня синергізму n в двохкомпонентній системі аскорбінова кислота-амінокислота від дипольного моменту амінокислот



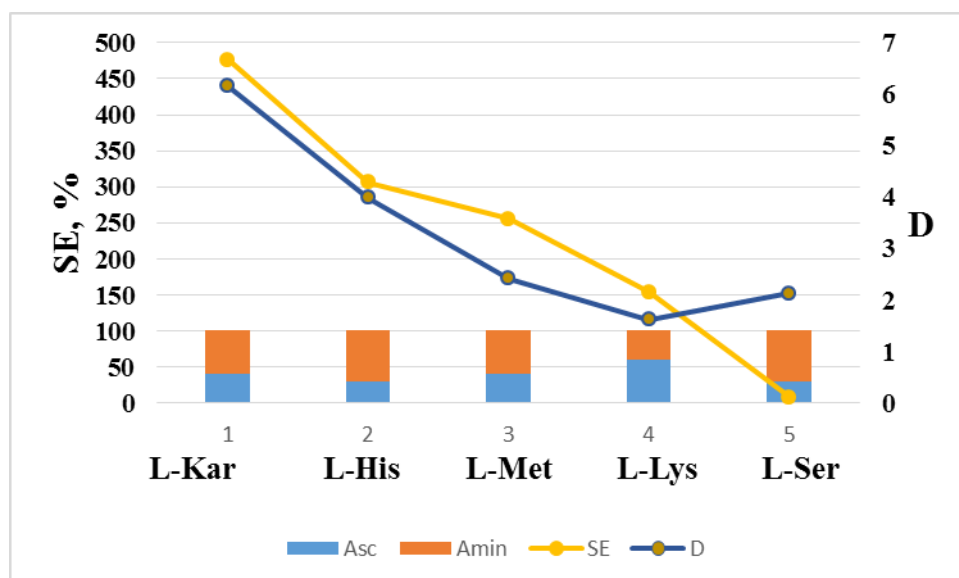


Рис 3.18 — Залежність синергетичної ефективності SE в двохкомпонентній системі аскорбінова кислота-амінокислота від дипольного моменту амінокислот

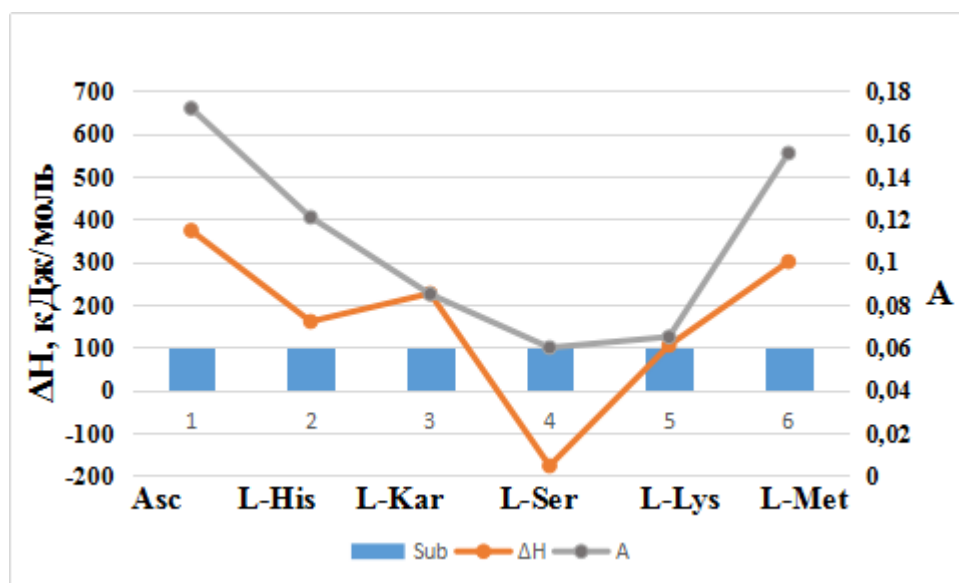


Рис 3.19 — Залежність оптичної густини індивідуальних сполук взаємодії з фосфомолібденовим реактивом від теплоти утворення індивідуальних сполук.  $C_{\text{реч}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ .

В рис.3.15 та 3.16 показано, що ступінь синергізму  $n$  та синергетична ефективність SE росте ідентично зі зростанням повної енергії індивідуальних амінокислот. Аналогічно, з рис. 3.17 та 3.18, ступінь синергізму та

синергетична ефективність росте зі зростанням дипольного моменту індивідуальних амінокислот. Тобто, можна зробити висновок, що характеристики синергетичного ефекту залежать від повної енергії та дипольного моменту вторинних антиоксидантів(синергістів).

З рис. 3.19 оптична густина взаємодії амінокислот, що є в даному випадку антиоксидантною активністю, залежить від теплоти утворення амінокислот.

### **Висновки до розділу 3**

Найактивнішим антиоксидантом серед амінокислот є L-гістидин, найпасивнішими — L-серин та L-лізин . Відновлювальна здатність сполук зменшується в ряду  $Asc > L-Kar > L-His > L-Met > L-Lys > L-Ser$  ..

Розроблено двох - та трьохкомпонентні синергетичні суміші на основі амінокислот. Найефективнішою двохкомпонентною синергетичною сумішшю є аскорбінова кислота:L-карнітин=3:7(SE=476%), трьохкомпонентною — аскорбінова кислота:L-гістидин:L-серин=1:1:3, (SE=1200 %).

Антиоксидантна активність сполук прямо залежить від природи самої речовини. На параметри синергетичного ефекту впливають повна енергія та дипольний момент вторинного антиоксиданту, антиоксидантні властивості індивідуальних сполук залежать від їх теплоти утворення.

## РОЗДІЛ 4. РОЗРОБЛЕННЯ СТАРТАП-ПРОЕКТУ

### 4.1 Резюме (вступ): бізнес-ідея, мета стартап-проекту, техніко-економічні показники

Від правильного вибору косметики багато в чому залежить краса і молодість шкіри. Щоб не помилитися, потрібно перш за все оцінити її поточний стан. При підвищеній жирності варто звернути увагу на знежирені засоби з протизапальними компонентами, а при сухій шкірі підійде косметика з насиченою текстурою, поживним і зволожуючим ефектами.

Другим важливим фактором є склад засобу. З віком у шкірі знижується вироблення гіалуронової кислоти, яка має дивовижну властивість зволожувати її. Велику роль відіграє таку речовину як білок колаген, віковий дефіцит якого також є однією з причин старіння шкіри. Чим більше нестача цих компонентів, тим інтенсивніше протікає процес старіння.

З віком синтез протеїнів сповільнюється, відбуваються кількісні і якісні зміни білкових структур в організмі. Візуально це проявляється у втраті пружності шкіри, появі зморшок.

Амінокислоти є найбільш значущим компонентом натурального зволожуючого фактора (NMF), молекули якого «упаковані» в клітини рогового шару епідермісу, складаючи приблизно 10% їх маси і від 20 до 30% сухої маси рогового шару. Одна з переваг амінокислот перед іншими активними косметичними інгредієнтами — невеликий розмір молекул, що дозволяє їм проникати глибоко і брати участь в процесах відновлення. Незамінними амінокислотами є :

- *гістидин* — антиоксидант, нейтралізує вільні радикали, захищає від пошкодження UV-променями;
- *L-карнітин* — покращує роботу серця і шлунково-кишкового тракту

- *метіонін*, що нейтралізує вільні радикали, уповільнює процеси старіння.
- *лізин*, що сприяє зволоженню шкіри, бере участь в синтезі колагену.

Замінними амінокислотами є *пролін*, що необхідний для синтезу колагену та *серин*, що важливий для процесу формування клітин та інших амінокислот, посередньо бере участь у формуванні нового колагену. Комплекси амінокислот застосовуються в антивіковій косметичці та косметичних процедурах для стимуляції синтезу білків в шкірі.

**Бізнес ідея** – модернізація рецептури зволожуючих кремів для шкіри обличчя на основі сумішей амінокислот.

Основна потреба, яку задовольнить даний стартап – це отримання якісного продукту, з переважним використанням натуральних антиоксидантів, які в суміші продукують комплексну дію в відновленні шкірі.

**Суб'єктами замовлення** можуть бути фізичні та юридичні особи, що мають необхідність у придбанні якісного крему з переважанням натуральної сировини.

**Об'єктом дослідження** є креми для обличчя.

Місце ідеї в ланцюжку цінностей інноваційного процесу: ідея; споживач - реалізація (юридична особа); споживач - експлуатація (фізична особа).

Бізнес-модель стартапу: B2B2C.

Аналогами ідеї є дорогокоштуючі, малодоступні креми для обличчя з переважним вмістом однієї амінокислоти або зашифрованим вмістом амінокислот, ринкова ціна на які коливається від 135 до 1056 грн, в залежності від місткості, якості, виробника.

Основними конкурентами є іноземні виробники — Holy Land (Ізраїль), Pyungkang Yul (Південна Корея), Laikou, Lavier France LTD. Основними категоріями споживачів можна вважати студентів та населення середнього класу.

Початковою метою є удосконалення рецептури крему для обличчя з натуральної сировини та впровадження її у виробництво.

Інші показники стартап-проекту наведені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Інші показники розробки стартап-проекту

№	Показник	Характеристика
1.	Ціни на закордонному ринку	TM Holy Land –1056грн (50 мл) TM Pyungkang Yul – 135 грн (100 мл) TM Laikou – 280 грн (50 мл) TM Lavier France –494 ₴ (50мл)
2.	Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	На етапі проведення тестування буде виготовлено 15 зразків трьох різних видів по 20 грам, які будуть безкоштовно віддані добровольцям для тестування. Після тестування засіб планується випускатися у тарі по 200 мл загальною кількістю 300 штук.
3.	Ключові фактори успіху стартапу	Використання трьох різних сумішей аскорбінової кислоти з амінокислотами в певному співвідношенні: аскорбінова кислота:L-гістидин:L-карітин:=3:1:1, аскорбінова кислота:L-гістидин:L-лізін=2:1:1, аскорбінова кислота:L-гістидин:L-серин=1:1:3. Саме таке співвідношення компонентів буде виявляти найбільшу антиоксидантну дію та глибше проникати в шкіру і здійснювати процеси відновлення(інформація на основі лабораторних досліджень).
4.	Споживачі на етапі розвитку	Добровольці отримають засіб безкоштовно, з умовою повної звітності результатів тестування.
5.	Споживачі на етапі зрілості	Дорослі з підвищеною сухістю шкіри.

Продовження таблиці 4.1

6.	Конкурентна ціна на продукт стартапу	Ціна на об'єм 200 мл -270 грн.
7.	Основні компоненти продукції стартапу (їх доля у готовому товарі, ступінь готовності компонентів у наявному виробництві)	<p>Вода (Aqua) – 70-100%</p> <p>Етилгексил пальмітат ( Ethylhexyl palmitate) – 5-10%</p> <p>Гліцерин (Glycerin) – 1-5%</p> <p>Гліцерил стеарат (Glyceryl stearate) – 1-5%</p> <p>Диметикон (Dimethicone) – 0,1-1%</p> <p>Лактат натрію (Sodium lactate) – 0,1-1%</p> <p>Екстракт алое барбаденсису (Aloe barbadensis extract) – 0,1-1%</p> <p>Фенілбензimidазол сульфонові кислоти (Phenylbenzimidazole sulfonic acid) – 0,1-1%</p> <p>Суміш аскорбінова кислота:L-гістидин:L-карітин=3:1:1 (Asc-L-His-L-Kar) – 0,1-1%;</p> <p>Або суміш аскорбінова кислота:L-гістидин:L-лізин=2:1:1(Asc-L-His-L-Lys) – 0,1-1%;</p> <p>Мінерали мертвого моря (Dead Sea minerals)– 0,1-0,5%</p> <p>Всі компоненти готові до виробництва.</p>

## Продовження таблиці 4.1

8.	Потенційні постачальники складових компонентів розробки (виділити вітчизняних і закордонних, плановий обсяг замовлень, наявна потужність постачальника)	Оскільки виробництво даного продукту тільки починає свій запуск, то на цьому етапі постачальниками сировини будуть українські компанії, які займаються продажем косметичної сировини від закордонних постачальників і мають сертифікати якості кожного компоненту. Суміш аскорбінової кислоти з амінокислотами буде синтезуватись власноруч.
9.	Планове місце реалізації результату розробки	Сторінки в соціальний мережі, магазини Косметичної продукції.
10.	Наявність посередників при реалізації	Власники магазинів косметичної продукції.
11.	Методи просування результатів розробки на ринок - Пропаганда Особистий продаж - Стимулювання збуту	1. Реклами в соціальні мережах, в каталогах журналів. 2. Продажу у відповідних точках збуту. 3. Участь у виставках, семінарах, форумах (за умови їх проведення), які відповідають тематиці засобу.

**4.2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу**

Для визначення стратегії поведінки продукту на ринку та планування подальших цілей необхідно проаналізувати зовнішнє і внутрішнє середовище виробництва. Аналіз зовнішнього середовища передбачає глибоке вивчення постачальників ресурсів, покупців продукції, наявності ринків збуту, існуючих технологій, конкурентів, законодавства, можливостей фінансування та інших

складових середовища. Аналіз внутрішнього середовища передбачає корпоративний аналіз самого підприємства, тобто його забезпечення ресурсами, конкурентоспроможності продукції, технологій, що застосовуються для виробництва продукції, забезпечення кваліфікованим персоналом, місця підприємства в галузі, можливостей розширення його діяльності, управлінської і виробничої структур.

Аналіз загроз, можливостей, а також факторів зовнішнього та внутрішнього середовища наведено в табл. 4.2 —4.4.

Таблиця 4.2 – Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

<b>Фактор</b>	<b>Загрози</b>	<b>Можливості</b>
Економіка	Велике податкове навантаження; Валютні коливання як результат впливу на ціну сировини;	- Отримання кредиту під малий відсоток; - Залучення великих інвесторів. - Збільшення попиту на товари вітчизняного виробника.
Політика	Посилення податкового тиску Запит великої кількості платних сертифікатів якості.	- Обґрунтоване законодавство



Продовження таблиці 4.2

Природне середовище	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Негативна екологічна ситуація;</li> <li>- Відсутність складів та заводів для сортування і перероблення відходів</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Напрямок косметичного ринку на використання природних компонентів;</li> <li>- Можливість повторного використання відходів виробництва.</li> </ul>
Соціальна сфера	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ріст мобільності населення</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Збільшення кількості прихильників до вітчизняних продуктів;</li> <li>- За погодних умов більшість дорослих зустрічаються з сухістю шкіри.</li> </ul>

Таблиця 4.3 – Переваги та недоліки внутрішнього середовища підприємства

Складові внутрішнього середовища	Переваги	Недоліки
Маркетинг	<p>Наявність:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- договорів з рекламними агентствами,</li> <li>- сторінки в соціальних мережах,</li> <li>- заходів у вигляді майстер-класів по виготовленню кремів.</li> </ul>	<p>Високі витрати на забезпечення конкурентоздатності у порівнянні з затвердженими на ринку компаніями;</p>

Продовження таблиці 4.3

Фінанси	Достатні фінансові ресурси для випуску перших пробних зразків продукції..	Обмежені інвестиційні можливості на подальше капіталовкладення.
Виробництво	Достатня кількість обладнання для розробки певних компонентів.	Наявність не дуже сучасного обладнання
Персонал	-Власна база підготовки кадрів (можлива співпраця з університетами); - Зниження мобільності населення.	Недостача кваліфікованих кадрів
Організація управління	Раціональна організаційна структура підприємства	Постійні зміни в системі управління

Ключові фактори успіху проекту визначались за допомогою методу Шонфільда. У табл. 4.4 представлена оцінка характеристик продукції. У табл. 4.5 наведена бальна оцінка характеристик продукції.

Таблиця 4.4 – Оцінка характеристик продукції

Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик		
		Наша продукція	Holy Land	Lavier
Ціна	0,3	5	3	4
Натуральність сировини	0,2	5	4	3

Продовження таблиці 4.3

Дотримання вимог нормативної документації	0,2	4	5	5
Якість готового продукту	0,2	5	5	4
Якість (термостабільність та колоїдна стабільність)	0,1	5	5	4

Таблиця 4.5 – Бальна оцінка характеристик продукції

№	Характеристики	Бальна оцінка характеристики		
		Наша продукція	Holy Land	Lavier
1.	Ціна	$0,3 \times 5 = 1,5$	$0,3 \times 3 = 0,9$	$0,3 \times 4 = 1,2$
2.	Натуральність сировини	$0,2 \times 5 = 1,0$	$0,2 \times 4 = 0,8$	$0,2 \times 3 = 0,6$
3.	Дотримання вимог нормативної документації	$0,2 \times 4 = 0,8$	$0,2 \times 5 = 1,0$	$0,2 \times 5 = 1,0$
4.	Якість готового продукту	$0,2 \times 5 = 1,0$	$0,2 \times 5 = 1,0$	$0,2 \times 4 = 0,8$
5.	Термостабільність та колоїдна стабільність	$0,1 \times 5 = 0,5$	$0,1 \times 5 = 0,5$	$0,1 \times 4 = 0,4$

На підставі отриманих бальних значень будуюмо графік (рис. 4.1) – порівняння конкурентних переваг нашого косметичного засобу з конкурентами.

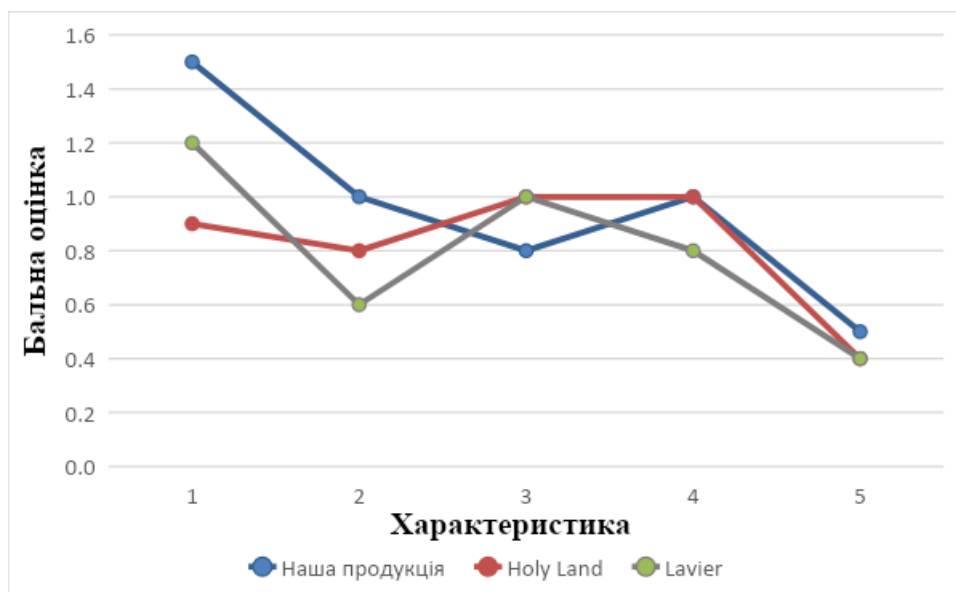


Рисунок 4.1 Порівняння конкурентних переваг підприємства з іншими

Відповідно до отриманих результатів фактором переваги косметичного засобу нашого підприємства є ціна та наявність натуральної сировини. За показником «нормативної документації» наша продукція не може конкурувати. За показником «якість готової продукції» наш крем має такі ж показники, як і конкурент ТМ Holy Land.

На основі аналізів сформовано можливі варіанти розвитку ідеї стартап проекту, які наведені в табл. 4.6

Таблиця 4.6 – Варіанти розвитку ідеї стартапу

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
Постачання сировини	Після значного збільшення випуску продукції організувати власний відділ постачання сировини іноземного виробництва.
Нормативна документація	Після збільшення обертів виробництва пройти акредитацію лабораторії за показниками ISO 17025

Продовження таблиці 4.6

Сортування та переробка відходів	Розробити власні способи повторного використання відходів з виробництва: органічні відходи віддавати на вторинну сировину іншим підприємствам.
----------------------------------	--

### 4.3 Визначення потенційних споживачів

Крім досліджень загального стану ринку, його тенденцій, формування на цій основі сценарію майбутнього, важливе значення має дослідження таких ключових суб'єктів ринку як споживачі. При цьому увага акцентується на кінцевих споживачах. Враховуючи специфіку продукту – крему для рук, було обрано модель діяльності B2B2C. Класифікація потенційних споживачів представлена в табл. 4.7.

Таблиця 4.7 – Класифікація потенційних споживачів

№	Критерій	Значення
Фізична особа		
1.	Вік	Засіб призначений для осіб віком від 18 років, які мають суху шкіру. Але засіб можна застосовувати для всіх типів шкіри.
2.	За платоспроможністю (визначити розмір готовності платити за придбання товару)	Споживачі будуть готові платити за даний товар, оскільки він є досить ефективним та нижчий по ціні, ніж іноземні аналоги.
3.	За соціальним рівнем споживачів	Крем для обличчя зможуть придбати особи з середнім та вищим рівнем достатку.

Продовження таблиці 4.7

4.	За способом життя (звички, традиції, стереотипи поведінки) · Фізичні · Психологічні · Емоційні · Духовні · Соціальні · Інтелектуальні	Засіб підійде для осіб, як часто здійснюють перельоти, змінюють кліматичні умови проживання, працюють в приміщеннях з маленькою вологістю, курять. Також засобу потребують ті, хто часто переживає емоційні травми.
5.	За ставленням до товару · Мотивація придбання · Пошук вигоди · Ставлення до товару · Інформованість про товар · Інтенсивність споживання товару	Споживачі, які переймаються за вологість шкіри, інформативність етикетки товару, готовність споживати регулярно даний товар, придбають його.
6.	За сімейними цінностями	Склад сім'ї та сімейний статус не впливає на вибір продукту. Дохід повинен бути середній або вище середнього.
7.	За співвідношенням бажання придбати і цінової межі (співставити цифри парами «місячний дохід – вартість одиниці товару»)	Ціна продукту – 300 грн за об'єм 200 мл. Для того, щоб дозволити витратити таку суму за крем для обличчя, місячний дохід покупця має бути від 8 000 грн.
8.	За інтенсивністю споживання товару · Разове придбання · Періодичне придбання · Систематичне придбання	Разове придбання допустиме для особистого переконання дії продукту. Потім це переросте в періодичне, та згодом – в системне придбання.

Продовження таблиці 4.7

9.	За інформованістю · Самоосвіта · ЗМІ · Спеціальні джерела	В перше чергу про засіб дізнаються та придбають користувачі інтернет-ресурсів, потім споживачі, які регулярно читають косметологічні журнали, а також люди, які борються з проблемою сухості шкіри, маючи середній достаток
----	--	---

Потреби основних трьох груп клієнтів наведено в табл. 4.8. На підставі отриманих результатів коригується ідея стартап-проекту.

Таблиця 4.8 – Клієнт та його потреби

Категорія клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою Вашого продукту
Клієнти з підвищеною сухістю шкіри	Суміш амінокислот з аскорбіновою кислотою проявляють антиоксидантні властивості, регенерують і насичують клітини корисними речовинами, усувають сухість і стягнутість.
Клієнти, які користуються органічними засобами	Використання косметик, яка виготовляється з природних антиоксидантів без використання SLES, парабенів, барвників.
<b>Відкоригована ідея стартап-проекту</b>	
В цілому ідея відповідає вимогам споживачів та задовольняє їхні потреби. Також є можливість розширення виробництва лінійки засобів по догляду за шкірою рук з різним вмістом амінокислот в якості антиоксидантів.	

Після визначення потенційних споживачів та їх потреб було сформовано плановий обсяг випуску готової продукції, шампуню для волосся в тарі об'ємом 200 мл, за місяцями в перший рік реалізації – табл. 4.9.

Таблиця 4.9 – Запланований обсяг продукції

	Травень, 2020	Червень, 2020	Липень, 2020	Серпень, 2020	Вересень, 2020	Жовтень, 2020	Листопад, 2020	Грудень, 2020	Січень, 2020	Лютий, 2020	Березень, 2020	Квітень, 2020
Плановий обсяг	300	350	375	400	500	600	800	800	900	900	1000	1000

#### 4.4 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Визначення потенційного споживача дає можливість визначити ціну для ідеї, технології та методики на ринку (табл. 4.10).

Таблиця 4.10 – Проектні ціни продажу ідеї за півроку, грн.

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи	
Крем для рук для зволоження шкіри з використанням амінокислот	Кількість, од.	Ціна, грн/од.	Кількість, од.	Ціна, грн/од.
	2525	300	2000-2500	1120

Після оцінки ринкової ціни товару формуємо верхню межу собівартості.

Оскільки ми маємо аналоги нашого продукту на ринку, то оцінку будемо визначати баловим методом, розрахунки наведені в табл. 4.11. Ціна на новий виріб при даному методі розраховуються так:

- 1) Визначається ціна одного балу:



$$\bar{C} = \frac{C_6}{\sum (B_{6i} \times V_i)} \quad (4.1)$$

2) Визначається ціна нового виробу:

$$C_n = \sum (B_{ni} \times V_i) \times \bar{C} \quad (4.2)$$

де  $C_6$  – ціна базового виробу-еталона;

$B_{6i}$  – балової оцінки і-мо параметра базового виробу;

$B_{ni}$  – балової оцінки і-го параметра нового виробу;

$\bar{C}$  – ціна одного балу;

Таблиця 4.11 – Розрахунок ціни баловим методом

Продукт	Параметри									
	1		2		3		4		5	
	бал	$K_{\text{ваг}}$	бал	$K_{\text{ваг}}$	бал	$K_{\text{ваг}}$	бал	$K_{\text{ваг}}$	бал	$K_{\text{ваг}}$
Аналог	60	0,3	40	0,2	45	0,2	40	0,2	25	0,1
Новий	65	0,3	45	0,2	40	0,2	40	0,2	30	0,1
<b>Ціна</b>										
Аналог	270; Одного балу= 270/(60×0,3+40×0,2+45×0,2+40×0,2+25×0,1)=5,93									
Новий	5,93×(65×0,3+45×0,2+40×0,2+40×0,2+30×0,1)=281,7									

Після розрахунку межі собівартості продукту складається калькуляція, приведена в табл. 4.12, яка має бути затверджена та підписана автором проекту.

Таблиця 4.12 – Калькуляція на матеріали

<b>Стаття витрат</b>	<b>Собівартість виробу, грн</b>
Сировина та матеріали	66 773,25
Покупні комплектуючі вироби, напівфабрикати, і послуги виробничого характеру	51 650
Паливо та енергія на технічні цілі	26 350
Заробітна плата основних виробничих робітників	46 500
Додаткова заробітна плата основних виробничих робітників	27 000
Відрахування на соціальні потреби від заробітної плати виробничих робітників (єдиний соціальний податок)	16096,5
<b>Всього</b>	<b>282 769,25</b>
Амортизаційні відрахування на утримання усіх ОЗ підприємства	150 000

Оскільки запуск лінії крему для рук буде впроваджуватися на ТОВ «Супермаш», тоді загальноцехові та загальногосподарські витрати будуть компенсуватися за рахунок використання їх обладнання.

Після написання калькуляції визначаються вартісні показники основних витрат проекту. Результати подані в табл. 4.13 та табл. 4.14.

Таблиця 4.13 – Забезпеченість проекту оборотними фондами

Група ОбФ	Назва	Норма витрат на рік	Ціна	Джерело фінансів
Сировина і матеріали	Сировина			
	Вода очищена	1000 м <sup>3</sup>	18 грн/м <sup>3</sup>	Державні фонди
	Етилгексил пальмитат	75 кг	445 грн/кг	Дохід, отриманий від поперед- нього виду діяльності.
	Гліцерин	25 кг	95 грн/кг	
	Гліцерил стеарат	25 кг	225 грн/кг	
	Диметикон	0,75 кг	225 грн/кг	
	Лактат натрію	0,75 кг	110 грн/кг	
	Екстракт алое барбаденсису	0,5 кг	500 грн/кг	
	Фенілбензимидазол сульфонової кислоти	0,2 кг	2500 грн/кг	

Продовження табл. 4.13

Сировина і матеріали	Аскорбінова кислота	6 кг	120 грн/кг	Кошти іноземних установ
	Гістидин	2 кг	1242 грн/кг	
	Карнітин	1 кг	1300 грн/кг	
	Лізин	1 кг	25 грн/кг	
	Мінерали мертвого моря	0,25 кг	352 грн/кг	Кошти іноземних установ
	Матеріали			
	Етиловий спирт технічний	40 л	42 грн/л	Дохід від реалізації
Всього		66 773,25 грн		
Паливо, електроенергія	Паливо	150 л	30 грн/л	Кошти громадських організацій
	Електроенергія	9 500 кВт	2,3 грн/кВт	
Всього		26 350 грн		
Напівфабрикати, Запасні частини	Напівфабрикати			
	Тара на 250 мл для фасування продукту	2525 шт.	8 грн/шт	Кредити банків
	Етикетки	5050 шт.	4 грн/шт	

Продовження табл. 4.13

	Запасні частини			
	Рідина для промивки обладнання	750 м <sup>3</sup>	15 грн/м <sup>3</sup>	Дохід від реалізації продукту
<b>Всього</b>		<b>51 650 грн.</b>		

Таблиця 4.14 – Забезпеченість проекту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень ЗП	Джерело фінансування ФОП
Робочі основні	Апаратник	1	Вища освіта, стаж роботи – від 3 років	7 500 грн	Кредити іноземних установ
	Інспектор відділу контролю якості	1	Базова або вища освіта, стаж роботи буде перевагою	9 000 грн	Кредити вітчизняних установ
Робочі допоміжні	Робітник	2		5 500 грн	

Продовження табл. 4.14

	Прибиральник	1		4 500 грн	
Спеціалісти	Інженер-технолог	1	Відповідна вища освіта, стаж – від 3 років	12 000 грн	Кредити іноземних установ
Молодший персонал	Лаборант	1	Вища освіта, варіанти студенти	8 000 грн	Кредити банків
Адміністративний апарат ТОВ «Супермаш»	Головний технолог	1	Вища освіта, стаж роботи на керівній посаді від 5 років	12 000 грн	Дохід, одержаний від першого запуску лінії
	Заступник директора з виробництва	1		15 000 грн	

#### 4.5 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Для ефективного запуску стартап-проекту в реалізацію необхідно розробити карту бізнес-процесів його виконання, описати всі етапи проходження стартап-проекту, визначити ресурси (матеріальні, людські). Ці та інші дані наведені в табл. 4.15.

Таблиця 4.15 – Карта бізнес-процесів виконання стартап-проектів

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
Розробка ідеї стартапу	Розробка рецептури засобу	3 ос, комп'ютер, лабораторне устаткування	45 днів	30 000 грн
	Розробка дизайну упаковки	1 ос, комп'ютер	14 днів	8 000 грн
	Розробка технології виготовлення засобу	5 ос, комп'ютер, лабораторне устаткування	60 днів	40 000 грн
	Розробка інструкції	1 ос, комп'ютер	4 дні	3 000 грн
	Вибір і розробка маркетингової стратегії	2 ос, комп'ютер	14 днів	20 000 грн

Продовження табл. 4.15

Реалізація ідеї	Закупівля сировини	1 ос, комп'ютер	14 днів	65 000 грн
	Користування обладнання на підприємстві	2 ос, комп'ютер	14 днів	30 000 грн
	Оренда приміщення	1 ос, комп'ютер	14 днів	50 000 грн
	Запуск маркетингової кампанії	2 ос, комп'ютер	7 днів	15 000 грн
	Організація шляхів доставки	1 ос, комп'ютер	7 днів	5 000 грн..
Впровадження у виробництво	Включення обладнання у технологічну лінію	2 ос, комп'ютер, обладнання	7 днів	7 000 грн
	Випробування тестової партії	2 ос, виробниче обладнання	4 дні	3 000 грн
Масова реалізація	Виробництво поточних партій	2 ос, виробниче обладнання	10 днів	10 000 грн
	Реалізація продукту	2 ос, виробниче обладнання	30 днів	5 000 грн
Закриття або продаж проекту (якщо передбачено)	Продаж обладнання	2 ос, комп'ютер	21 день	8 000 грн
	Продаж залишків товару на складі	2 ос, комп'ютер	14 днів	5 000 грн



На основі визначених етапів було розписано відповідальних за проходження бізнес-процесів стартап-проекту. Дані наведені в табл. 4.16.

Таблиця 4.16 – Відповідальні за проходження бізнес-процесів

Функції	Елементи						
	Розробник	Інж. - технолог	Хімік-аналітик	Апаратник	Адм. апарат	Маркетолог	Дистриб'ютор
Розробка рецептури засобу, технології виготовлення, інструкції	+	+					
Розробка упаковки та маркетингової стратегії	+					+	
Закупівля обладнання, сировини	+	+	+				
Запуск маркетингової кампанії	+					+	
Включення обладнання у технологічну лінію		+	+		+		
Виробництво та випробування тестової партії		+	+	+	+		
Виробництво поточних партій		+	+	+			
Реалізація продукту						+	+

#### 4.6 Ризики розробки та методи управління ними

Кожна інноваційна розробка при реалізації зустрічається з ризиками, як внутрішніми, так і зовнішніми. Ризики перекликаються з загрозами, які можуть виникнути. Перелік ризиків наведені в табл. 4.17.

Таблиця 4.17 – Перелік ризиків

Види ризиків	Імовірність настання	Вплив на очікуваний результат
<b>Зовнішні ризики</b>		
Економічний занепад	середня - висока	Зниження показників
Посилення податкового тиску	висока	Вимушене підвищення вартості крему для рук
Поява нових конкурентних виробів	середня	Зменшення кількості споживачів продукції
Ріст мобільності населення	середня	Зменшення кількості споживачів продукції
Закриття ТОВ «Супермаш»	середня	Сповільнення розвитку виробництва
<b>Внутрішні ризики</b>		
Висока завантаженість устаткування	висока на початкових етапах	Додаткові витрати на ремонт обладнання
Недостача кваліфікованих кадрів	середня	Нерівномірний розподіл обов'язків між робітниками
Обмежені інвестиційні можливості	середня, наближена до високої	Сповільнення розвитку виробництва

У табл. 4.18 наведено методи управління найбільш суттєвими ризиками.

Таблиця 4.18 – Методи управління ризиками

<b>Ризик</b>	<b>Метод управління</b>
Економічний занепад	<ul style="list-style-type: none"> <li>- створення резервів в грошовій формі;</li> <li>- стратегічне планування діяльності;</li> <li>- використання дешевших аналогів сировини зі схожими фізико-хімічними показниками;</li> </ul>
Висока завантаженість устаткування	- покупка додаткового обладнання з поточного доходу, довгострокових кредитів банку;
Поява нових конкурентних виробів	<ul style="list-style-type: none"> <li>- удосконалення рецептури крему для рук;</li> <li>- розширення лінійки косметичних засобів;</li> </ul>
Обмежені інвестиційні можливості	<ul style="list-style-type: none"> <li>- створення резервів в грошовій формі;</li> <li>- укладання взаємовигідних договорів з інвесторами.</li> </ul>
Закриття ТОВ «Супермаш»	- укладання нових договорів з партнерами для контрактного виробництва

Таблиця 4.19 – Техніко-економічні показники проекту

<b>№</b>	<b>Показники</b>	<b>Одиниця виміру</b>	<b>Умовне позначення, формула розрахунку</b>	<b>Значення показника</b>
1.	Річний обсяг реалізації продукту	Од.	В	8 000
2.	Середньорічна чисельність персоналу за списком, Осіб	Осіб	$Ч_{сп} = Ч_{яв} \times К_{пер}$	8

Продовження табл. 4.19

3.	- основних - допоміжних - інженерно-технічного персоналу	Осіб		3 3 2
4.	Середньорічний виробіток виробника	Од/особу	$ПП_{с.р.} = V/\chi_{сп}$	380
5.	Капіталовкладення - всього - на одиницю продукції	Грн Грн/од.	$K = OF + OOK$	2 364 882,25 295
6.	Повна собівартість: - всього - на одиницю продукції,	Грн Грн/од	$C = A + OOK$	1 364 882 170
7.	Відносний прибуток	Грн/од	$\Pi = Ц - С$ $Ц = 300 \text{ грн/од}$	130
8.	Рентабельність	%	$P = (\Pi / C) \times 100$	176
9.	Період повернення капіталовкладень	Років	$T_{пов} = K / \Pi$	2,2
12.	Коефіцієнт економічної ефективності		$E = \Pi / K$	0,73

#### Висновки до розділу 4

В ході розробки стартап-проекту проаналізовані основні конкуренти з виробництва з даної продукції, їх переваги та недоліки. Проведений аналіз загроз та можливості, зовнішнього та внутрішнього середовища. Визначені потенційні споживачі даного продукту.

Рентабельність проекту складає 76 %, термін повернення

капіталовкладень – 2,2 роки, коефіцієнт економічної ефективності складає 0,73.

Таким чином, провівши аналіз українського та іноземного ринків, розробивши план запуску стартап-проекту та розрахувавши основні техніко-економічні показники, можна зробити висновок, що запропоноване виробництво є досить актуальним та рентабельним для його запуску.

## ВИСНОВКИ

Під час виконання даної магістерської дисертації було досліджено антиоксидантну активність фосфомолібденовим методом та відновлювальну здатність фериціанідним амінокислот в індивідуальному стані. Найактивнішим антиоксидантом серед амінокислот є L-гістидин, найпасивнішими — L-серин та L- лізин . Найкращу відновлювальну здатність проявляють L-гістидин та L-карнітин.

Розроблено двох - та трьохкомпонентні синергетичні суміші на основі амінокислот. Найефективнішою двохкомпонентною синергетичною сумішшю є аскорбінова кислота:L-карнітин=3:7(SE=476%), трьохкомпонентною — аскорбінова кислота:L-гістидин:L-серин=1:1:3, (SE=1200 %).

За допомогою квантово-хімічних розрахунків визначено, що на показники синергетичного ефекту в сумішах кислот впливають повна енергія та дипольний момент амінокислот, на антиоксидантну активність амінокислот — ентальпії утворення амінокислот.

Отриману трьохкомпонентну синергетичну суміш використано для модернізації рецептури зволожуючих кремів для шкіри обличчя на основі амінокислот та виконано стартап-проект з виробництва даного засобу. Його розрахунки показують, що він є досить актуальним та має високі техніко-економічні показники: рентабельність проекту складає 76 %, термін повернення капіталовкладень – 2,2 роки, коефіцієнт економічної ефективності складає 0,73.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Яркина М. В., Куприна А. О., Симоненкова А.П., Антиоксиданты. Механизм действия и свойства. Пути использования в молочной промышленности. *Потребительский рынок: качество и безопасность продовольственных товаров*: материалы VII межд. науч. – практ. Конф (Орел, 16-17 декабря 2013 г.). Орёл: Госуниверситет УНПК, 2013. С.190-192.
2. Rasooli I. Food preservation – a biopreservative approach. *Global Science Books. Food* 1(2). 2007. P. 111-136.
3. Сорокина И.В., Крысин А.П., Кобрин В.С., Хлебникова Т.Б., Попова Л.Н. Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободно-радикальному окислению. Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 1997. №46. С.68.
4. M. Carvalho, K.C. Leandro, A.R. Silva, R.Q. Aucelio, Selective determination of rutin by fluorescence attenuation of the CdS-2-mercaptopropionic acid nanocrystal probe, *Anal. Lett.* 46, 2013. P. 207–224.
5. A. Paulke, M. Schubert-Zsilavec, M. Wurglics, Determination of St. John's wort flavonoid-metabolites in rat brain through high performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection, *J. Chromatogr. B* 832, 2006. P. 109–113.
6. A.B.Kurzer M.L.Dunn O.A.Pike D.L.Eggett L.K.Jefferies Antioxidant effects on retinyl palmitate stability and isomerization in nonfat dry milk during thermally accelerated storage . *International Dairy Journal*, 2014. V. 35. P. 111–115.
7. Madhavi D.I. Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives food science and technology. 1996. *New York: CRC Press.* – 664p.
8. J.C.Bauernfeind D.M.Pinkert Food processing with added ascorbic acid . *Advances in Food Research*, 1970. V.18. P. 219–315.
9. Баль-Прилипко Л.В. Инновационные технологии качественных и безопасных мясных изделий / Л.В. Баль-Прилипко–Киев: КВИЦ, Монография, 2012.– 207 с.

10. Lee S., Hernandez P. Effect of antioxidants an cooking on stability of n-3 fatty acids in fortified meat products . *J. Food Sct*, 2006. V.71. P. 233–238.
11. Handbook of antioxidants for food preservation. Edited by F.Shahidi. 2015. *Woodheas Publ: Amsterdam* –514 p.
12. Ingredients in meat products: properties, functionality and application. Edited by R.Tate. 2015.Springer: New York. – 419 p.
13. S.ZTang J.PKerry D.Sheehan D.J Buckley P.A. Morrissey Dietary tea catechins and iron-induced lipid oxidation in chicken meat, liver and heart .*Meat Science*, 2000. V.56. P. 285–290.
14. Корулькін Д.Ю. «Природні флавоноїди». .Новосибірськ. — 2007. — 270 стр.
15. Emma M.Marinova Nedjalka Vl. Yanishlieva Antioxidative activity of phenolic acids on triacylglycerols and fatty acid methyl esters from olive oil .*Food Chemistry*, 1996. V. 56. P. 139–145.
16. Nedjalka Yanishlieva, Emma M. Marinova Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil *Food Chemistry*, 1995. V. 54. P. 377–382.
- 17.Баканева В.Ф., Уминский А.А., Хавстеен Б.Х. Биохимия флавоноидов и их значение в медицине. Пушино: Фотон-Век, 2007. — 262 с.
18. Edible oils production. Edited by Hamm W., Hamilton R.J.,. 2013. *Willey–Blackwell: New York*. –514 p.
19. Huiyun Zhang, Jingjuan Wu, Xinyu Guo Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality . *Food Science and Human Wellness*, 2016. V. 5. P. 39-48.
20. Frankel E.N. Antioxidants in food and biology: facts and fiction. 2007. *Oily Press: Oxford* – 268 p.
21. Meister A. On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *.Biochemical Pharmacology*, 1992. V. 44. p. 1905-1915.
22. Gow-Chin Yen, Pin-Der Duh, Hui-Ling Tsai Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, 2002. V.79. P.307–313.



23. Ластухін Ю.О. Органічна хімія: Підручник для вищих навчальних закладів / Ластухін Ю.О., Воронов С.А. – Львів: Центр Європи, 2006. – 864 с.
24. Susan L. Cuppett, Clifford A. Hall Antioxidant Activity of the Labiatae . *Advances in Food and Nutrition Research*, 1998. V. 42, P. 245–271.
25. Masuda T., Kirikihira T., Thermal recovery of antioxidant activity from carnosol quinone, the main antioxidation product of carnosol . *J.Sci. Food Agricul.* 2004. V. 84. P.1421-1427.
26. R.C. Patra, D. Swarup, S.K. Dwivedi Antioxidant effects of  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats .*Toxicology*, 2001. V.162. P.81–88.
27. Koushki M., /Nahidi M. Physico-chemical properties, fatty acid profile and nutrition in palm oil . *J.Paramed. Sci*, 2015. V.6. P. 117-134.
28. Minchul Yoon, Koo Jung, Kwang-Youll Lee, Je-Yong Jeong Synergistic effect of the combined treatment with gamma irradiation and sodium dichloroisocyanurate to control gray mold (*Botrytis cinerea*) on paprika . *Radiation Physics and Chemistry*, 2014.V. 98. P. 103–108.
29. Ock-Sook YI, Daeseok Han Hyun-Kyung Shin Synergistic Antioxidative Effects of Tocopherol and Ascorbic Acid in Fish Oil/Lecithin/Water System *JAOCs*, 1991. V. 68.
30. Qixin Leng, Martin C. Woodle, Yijia Liu, A. James Mixson Silver adducts of four-branched histidine rich peptides exhibit synergistic antifungal activity . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016. V. 477. P.957–962.
31. Sanchez-Escalante A., Djeaneane D., Torrescano G. et.al. Antioxidant action of borage rosemary, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *J. Food Sci.* 2003. V. 68. P. 339–344.
32. Chan K.W., Khong N.M., Iqbal S. et.al. Cinnamon bark deodorized aqueous extract as potential natural antioxidant in meat emulsion system: a comparative study with synthetic and natural food antioxidant. *J. Food Sci.* 2014. V. 72. P. 49–56.

33. Brannan R.G. Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *J. Food Sci.* 2008. V.17 . P. 36–40.

34. Gordon M.H., Kourimska L. The effect of antioxidants on changes in oils during heating and deep frying. *J. Food Agric.* 1995. V. 68. P. 347–353.

35. Lee C. H., Reed J.D., Richards M.P. Ability of various polyphenolic classes from cranberry to inhibit lipid oxidation in mechanically separated turkey and cooked ground pork. *J. Muscle Food.* 2006. V. 17. P. 248–266.

36. N. Srivastava, R.Srivastava Curcumin and Quercetin synergistically inhibit cancer cell proliferation in multiple cancer cells and modulate WNT/ $\beta$ -catenin signaling and apoptotic pathways in A375 cells. *Phytomedicine*. 2008. P. 1–38.

37. Antioxidant synergism of green tea polyphenols with  $\alpha$ -tocopherol and L-ascorbic acid in SDS micelles. *Biochimie.* 2008. V.90. P.1499–1505.

38. J. Milde, E. F. Elstner, J. Graßmann Synergistic inhibition of low-density lipoprotein oxidation by rutin,  $\gamma$ -terpinene, and ascorbic acid. *Phytomedicine.* 2004. V.11: P.105–113.

39. Wayner D.D., Burton G.W., Ingold K.U., Locke S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. *FEBS Letters.* 1985. V. 187. P. 33–37.

40. Tubaro F., Ghiselli A., Rapuzzi P., Maiorino M., Ursini F.: Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 1998. V. 24. P. 1228–1234.

41. Lussignoli S., Fraccaroli M., Andrioli G., Brocco G., Bellavite P. A microplate-based colorimetric assay of the total peroxy radical trapping capability of human plasma. *Analytical Biochemistry.* 1999. № 269. P. 38–44.

42. Krasovska A., Rosiak D., Czkaplak K., Lukaszewicz M. Chemiluminescence detection of peroxy radicals and comparison of antioxidant activity of phenolic compounds. *Current topics in Biophysics.* 2000. V. 24. P. 89–95.

43. Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V.M., Azzolini A., Forseka M.J. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharm Sci.* 2003. V. 5(2).

44. Ghiselli A., Serafini M., Maiani G., Azzini E., Ferro-Luzzi A. A fluorescence- based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radicals In Biology And Medicine.* 1995. V. 18. P. 29–36.

45. Abella A., Messaoudi C., Laurent D., Marot D., Chalas J., Breux J., Claise C., Lindenbaum A. A method for simultaneous determination of plasma and erythrocyte antioxidant status. Evaluation of the antioxidant activity of vitamin E in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 1996. V. 42. P. 737–741.

46. Benzie I.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay . *Analitycal Biochemistry.* 1996. V. 239. P. 70–76.

47. Dasgupta A., Malhotra D., Levy H., Marcadis D., Blackwell W., Johnston D. Decreased total antioxidant capacity but normal lipid hydroperoxide concentrations in sera of critically ill patients. *Life Sciences.* 1997. V. 60. P. 335–340.

48. Dasgupta A., Zdunek T. In vitro lipid peroxidation of human serum catalyzed by cupric ion: antioxidant rather than prooxidant role of ascorbate . *Life Sciences.* 1992 V. 50. P. 875–882.

49. Lustenberg N., Lange H. W., Hempel K., *Angew. Chem.* 1972. V. 11 P. 227.

50. P. Bersuder, M. Hole, and G. Smith Antioxidants from a heated histidine–glucose model system. Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography. *JAOCS.* 1998. Vol. 75. № 2. P.181–185.

51. Cao G. H., Alessio H. M. Cutler R. G. Oxygen Radical Absorbency Capacity Assay for Antioxidants. *Free Radicals In Biology And Medicine.* 1993. V. 3. №14. P. 303–311.

52. D.Johnston, R.A.Hudson Phospholipids of the cone-rich chicken retina and its photoreceptor outer segment membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*.V. 1974. 369, I.3. P. 269–277.

53. Warner K., Frankel E.N. Effect of  $\beta$ -carotene on light stability of soybean oil. *J.Am.Oil.Chem.Soc.* 1987. V.64. P.213-218.

54. М. А. Войтехович та ін. L-аскорбиновая кислота как антиоксидант и сигнально-регуляторный агент в клетках высших растений. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2018;2:, С.27–38.

55. Джерело: <https://yakapitalist.ru/finansy/askorbinovaya-kislota/>.

56. Болдырев, А.А. Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине/ А.А.Болдырев. М.:Изд-во МГУ,1998. — 320 с.

57. Boldyrev, A.A. Physiology and pathphysiology of carnosine [Text] / A.A.Boldyrev, G. Aldini, W. Derave . *Physiol. Rev.* 2013. Vol. 93, N 4. P. 1803–1845.

58. Лисицын А. Теория и практика переработки мяса / А.Лисицын. — М.: ВНИИМП, 2006. — 391 с.

59. Л.А. Балыкова, С.А. Ивянский, М.И. Киселева, И.А. Маркелова Перспективы использования антиоксидантов и антигипоксантов в детской спортивной кардиологии. *Revista Ozonoterapia*, 2009. Vol 1, N.3. P. 72-75.

60. Л.В. Ловцова Исследование комплементарности препаратов железа с антиоксидантами в эксперименте. *Биомедицинские исследования*,2011. 2. — с.18–25.

61. K. Renugadevi, C. Valli Nachiyar, P. Sowmiya, Swetha Sunkar Antioxidant activity of phycocyanin pigment extracted from marine filamentous cyanobacteria *Geitlerinema* sp TRV57. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. V. 16. 2018. P. 237–242.

62. Мельситова, И. В. Качество и безопасность продуктов питания : пособие. В 2 ч. Ч. 1. Качество продуктов питания / И. В. Мельситова. — Минск : БГУ, 2014. —183 с.

63. Laetitia L.S. Canabady-Rochelle, Christelle Harscoat-Schiavo, Violette Kessler, Arnaud Aymes, Frantz Fournier, Jean-Michel Girardet Determination of Reducing Power and Metal Chelating Ability of Antioxidant Peptides: Revisited Methods. Food Chemistry. 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.147>
64. А. Н. Маслий, Т. Н. Гришаева, Е. А. Коваленко Квантово-химические расчёты колебательных спектров в системе вода-кукурбит[5]урил. *Вестник технологического университета*. —2015. —Т.18— №12.
65. Основы аналитической химии В 2-х книгах. Под ред. акад. Ю.А.Золотова, -М., 2000. - т.1, с.31-32, т.2 с. 198—282.
66. Е.И. Короткова и др. Исследование антиоксидантных свойств некоторых аминокислот методом вольтамперометрии. *Сибирский медицинский журнал*, Томск. 2011. С.62—65.
67. Choe E., Min D.B. Mechanism of antioxidants in the oxidation of foods. *Compreh. Rev Food Sci.Food Saf.* 2009. V.8. P.345—358.
68. Ock-Sook YI, Daeseok Han, Hyun-Kyung Shin Synergistic Antioxidative Effects of Tocopherol and Ascorbic Acid in Fish Oil/Lecithin/Water System. *JAACS*. Vol. 68. No. 11. P.881—883.
69. Synergistic anti-inflammatory effects and mechanisms of combined phytochemicals. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2019. P.1—42.
70. Гурвич Л.В., Караченцев Г.В., Кондратьев В.Н., Лебедев Ю.А., Медведев В.А., Потапов В.К., Ходеев Ю.С. Энергии разрыва химических связей. Потенциалы ионизации и сродство к электрону. – М.: Наука, 1974.